

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUANA CAROLINA BOSMULER ZÜGE

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA POLPA E DO ÓLEO
DE ABACATE (*Persea americana*) VISANDO A OBTENÇÃO
DE FOSFOLIPÍDEOS PARA USO EM EMULSÕES

CURITIBA
2015

LUANA CAROLINA BOSMULER ZÜGE

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA POLPA E DO ÓLEO
DE ABACATE (*Persea americana*) VISANDO A OBTENÇÃO
DE FOSFOLIPÍDEOS PARA USO EM EMULSÕES

Tese de doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos,
Setor de Tecnologia, Universidade Federal do
Paraná.

Orientadora: Prof^ª Dr^a Agnes de Paula Scheer
Co-orientador: Prof. Dr. Vitor Renan da Silva

CURITIBA
2015

Z94e

Züge, Luana Carolina Bosmuler

Extração e caracterização da polpa e do óleo de abacate (*Persea americana*) visando a obtenção de fosfolípidos para uso em emulsões/
Luana Carolina Bosmuler Züge. – Curitiba, 2015.

114 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2015.

Orientador: Agnes de Paula Scheer – Co-orientador: Vitor Renan da Silva.

Bibliografia: p. 106-114.

1. Abacate. 2. Fosfolípidos. 3. Emulsões. 4. Reologia - Medição. I. Universidade Federal do Paraná. II. Scheer, Agnes de Paula. III. Silva, Vitor Renan da. IV. Título.


CDD: 665.3

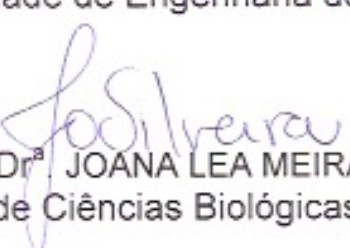
LUANA CAROLINA BOSMULER ZÜGE

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA POLPA E DO ÓLEO DE
ABACATE (*Persea americana*) VISANDO A OBTENÇÃO DE
FOSFOLIPÍDEOS PARA USO EM EMULSÕES**


Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão
formada pelos professores:


Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. AGNES DE PAULA SCHEER
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof.^a. Dr.^a. ROSIANE LOPES DA CUNHA
Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP


Prof.^a. Dr.^a. JOANA LEA MEIRA SILVEIRA
Setor de Ciências Biológicas, UFPR


Prof. Dr. ALEXANDRE FERREIRA SANTOS
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof.^a. Dr.^a. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 12 de novembro de 2015.

A Deus.

Ao meu marido, Alexandre.

Aos meus pais, Celita e Frederico.

Por todo amor, por tudo o que sou e
por tudo o que eu alcancei.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu força e sabedoria em todos os momentos dessa jornada.
Ao meu marido, Alexandre Prusch Züge pelo seu amor, compreensão, por me ajudar em várias etapas, tentar entender o meu trabalho, por seus excelentes conselhos e por estar sempre ao meu lado.

Aos meus pais, Celita e Frederico Bosmuler: vocês sempre foram e sempre serão meu maior orgulho e inspiração! Ao meu irmão Rudolfo por todo incentivo e carinho. A minha avó por todo incentivo e apoio sempre. A todos os meus familiares, que de um modo ou outro contribuíram ao longo deste período.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Agnes de Paula Scheer, pela confiança, dedicação, exemplo de profissionalismo e amizade. Seus conselhos, críticas e orientações foram essenciais na realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Vitor Renan da Silva pela orientação e amizade.
Ich möchte mich noch herzlich bei Prof. Dr.-Ing Heike P. Schuchmann für die gute Aufnahme in Karlsruher Institut für Technologie bedanken. Wie auch Ulrike Schmidt und Tim Siebert für die Unterstützung in meinen Aufenthalt in Deutschland.

À Prof^a Dr^a Joana Lea Meira Silveira pelo auxílio com as análises reológicas, pelo aprendizado e por ter cedido equipamento para realização das análises.

À Prof^a Dr^a Mayumi Eliza Otsuka Sato e ao Prof. Dr. Fábio Seigi Murakami pela disponibilidade e auxílio para realização das análises de atividade antimicrobiana.

À Prof^a Dr^a Joana Lea Meira Silveira e ao Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk que me ofereceram, durante o exame de qualificação, muitas sugestões, exemplos e críticas.

À Prof^a Dr^a Rosiane Lopes da Cunha, à Prof^a Dr^a Joana Lea Meira Silveira, ao Prof. Dr. Alexandre Ferreira Santos e à Prof^a Dr^a Rosemary Hoffmann Ribani pelas sugestões e correções durante minha defesa.

Às minhas amigas, Leomara, Paloma e Helayne, por toda amizade durante esses anos, mesmo nos momentos mais difíceis. Aos meus amigos, Larize, Manoela, Anderson, Thiago, Gerson, Rafael, Adriano, Aline e Sarah, pelas horas de conversa e risadas. Aos demais amigos e colegas que contribuíram de alguma forma na realização desse trabalho.

Aos funcionários, Paulo, Patrícia, Sheila e Andreia pelo auxílio durante o doutorado.

Ao Prof. Dr. Moacir Kaminski pelos auxílios e ensinamentos.

À IMCOPA S/A pela doação da lecitina de soja para realização dos experimentos, e pela ajuda nas análises do óleo e do fosfolípídeo de abacate.

Ao Eriel pela realização das análises de perfil de ácidos graxos.

Ao PPGEAL pela oportunidade de realizar o doutorado.

À CAPES pelo suporte financeiro e oportunidade de realização do doutorado sanduíche.

RESUMO

O abacate (*Persea americana*), fruto originário da América Central, é uma rica fonte de óleo. Diversos estudos relatam propriedades benéficas relacionadas ao óleo de abacate devido principalmente à alta concentração de ácidos graxos insaturados e alto teor de insaponificáveis. Além destes são encontrados até 2,1 % de fosfolipídeos na fração lipídica do abacate, de acordo com a variedade. Porém, durante o processo industrial de extração do óleo por via enzimática, ocorre a perda dos fosfolipídeos. Os fosfolipídeos, devido a sua estrutura química, apresentam capacidade emulsificante, podendo assim ser utilizados em diversos produtos na indústria de alimentos, com a vantagem de ser um produto natural. Com base nisto, este trabalho teve o objetivo de estudar algumas características do óleo de abacate, estabelecer um método de extração de fosfolipídeos e analisar a aplicabilidade destes em emulsões em diferentes condições. Inicialmente as amostras de polpas das variedades Hass, Margarida e Fortuna foram submetidas à análises de composição centesimal, microscópicas e reológicas. A partir das avaliações realizadas foi escolhida a variedade Margarida para a sequência do projeto. A polpa do abacate variedade Margarida foi liofilizada e foram testados seis métodos de extração a frio de óleo, com diferentes solventes e suas combinações, entre eles hexano, acetona, etanol, clorofórmio e metanol, a fim de obter um óleo de abacate com alta concentração de fosfolipídeos. O óleo extraído utilizando metanol:clorofórmio (2:1) + acetona foi o que apresentou maior rendimento de fosfolipídeos (0,57 g de fosfolipídeos por 100 g de polpa seca). Os óleos obtidos antes e após o processo de degomagem (extração de fosfolipídeos), foram analisados em relação ao perfil de ácidos graxos, degradação térmica e comportamento reológico, comparando-os com óleo bruto e refinado comercial extraído pelo método enzimático. A partir do óleo de abacate bruto foi realizada a extração dos fosfolipídeos. Análises de tensão interfacial dinâmica e reologia interfacial dilatacional foram realizadas em cinco concentrações de fosfolipídeos de abacate comparando-os com os fosfolipídeos da soja. A aplicação de 1 % (m/v) de fosfolipídeos do abacate foi realizada inicialmente em emulsões contendo óleo de soja e água, com pH 7. Foram preparadas emulsões com concentração de fase oleosa de 20, 30, 40, 50, 60 e 70 % (v/v), com óleo de soja. Estas emulsões foram analisadas em relação a estabilidade, microscopia óptica e condutividade, e, a partir dos resultados obtidos, foi escolhida a emulsão com 50 % (v/v) de fase oleosa para realização dos demais testes. Em seguida foram preparadas emulsões com pH 3 e 7, e com 1 e 2 % de fosfolipídeos. Foram analisados estabilidade, microscopia óptica e comportamento reológico estático e oscilatório. Os resultados obtidos foram que as polpas de abacate, quando homogeneizadas, apresentaram-se como emulsões O/A, as quais possuem comportamento pseudoplástico e característica viscoelástica de gel. Em todos os óleos de abacate foi determinada a presença de ácido oleico (acima de 50 %), e degradação térmica entre 350 e 500 °C. Foi observado comportamento reológico Newtoniano para óleos comerciais e pseudoplástico para os óleos extraídos em laboratório. Os fosfolipídeos do abacate, constituídos principalmente por fosfatidiletanolamina (54 %), fosfatidilcolina (31%) e fosfatidilinositol (15 %), diminuem a tensão interfacial entre óleo e água, com comportamento similar ao dos fosfolipídeos da soja. As emulsões preparadas com 1 % (m/v) de fosfolipídeo de abacate foram do tipo O/A, com até 60 % (v/v) de fase oleosa. As emulsões com 50 % (v/v) de fase oleosa nos pH 3 e 7 apresentaram estabilidade superior a uma hora, e comportamento reológico de fluido pseudoplástico. Na análise oscilatória, as emulsões preparadas tiveram comportamento viscoelástico de gel. Concluiu-se que a extração dos fosfolipídeos a partir do óleo de abacate da variedade Margarida é possível, e este produto tem propriedades interfaciais, como diminuição da tensão interfacial, e pode ser utilizado no preparo de emulsões alimentícias O/A.

ABSTRACT

The avocado (*Persea americana*), a fruit originated in Central America, is a rich source of oil. Several studies report beneficial properties related to avocado oil mainly due to a high concentration of unsaturated fatty acids and high unsaponifiable content. Besides that, up to 2.1 % of phospholipids is found in the avocado oil, depending on the cultivar. However, during the industrial process of oil extraction via enzymatic method, phospholipids are wasted. Due to their chemical structure, phospholipids show emulsifying capacity and, therefore, may be used in several products in the food industry with the advantage of being a natural product. Based on this, the objectives of this work were studying some characteristics of avocado oil, establishing a phospholipid extraction method and analyzing the applicability of such phospholipids in emulsions in various conditions. Initially, pulp samples of Hass, Margarida and Fortuna cultivars were submitted to chemical composition, microscopic and rheological analysis. Based on the performed analysis the Margarida cultivar was chosen for the sequence of the project. Pulp from the Margarida cultivar was lyophilized and six cold oil extraction methods were tested using combinations of various solvents, including hexane, acetone, ethanol, chloroform and methanol, to obtain avocado oil with a high concentration of phospholipids. Oil extracted using methanol:chloroform (2:1) + acetone presented the best efficiency (0.57 g of phospholipids for 100 g of dried pulp). Oil obtained by the extraction method before and after the degumming process (phospholipid extraction) were analyzed for fatty acids profile, thermal degradation and rheological behavior, and were compared with crude and refined industrialized oil obtained by the enzymatic method. Phospholipids were extracted from crude oil. Dynamic interfacial tension analysis and interfacial dilatational rheology were performed for five concentrations of avocado phospholipids comparing them with soybean phospholipids. Application of avocado phospholipids was conducted initially in emulsions with pH 7, in concentration of 1 wt.%. Emulsions were prepared with oil phase concentrations of 20, 30, 40, 50, 60 and 70 vol.%, with soybean oil. The emulsions were analyzed concerning stability, optical microscopy and conductivity. The oil phase concentration of 50 % was chosen for further tests. Next, emulsions were prepared with pH 3 and 7 and with 1 and 2 wt.% of phospholipids. Analyses were conducted in respect of stability, optical microscopy and oscillatory and non-oscillatory rheological behavior. The avocado pulp when homogenized presents itself as O/W emulsions, which exhibit pseudoplastic behavior and gel viscoelastic characteristic. Avocado oil is rich in oleic acid (higher than 50 %) and presents thermal degradation between 350 and 500°C. It was observed Newtonian behavior for commercial oils and pseudoplastic behavior for the oils extracted in the laboratory. Avocado phospholipids, mainly consisting of phosphatidylethanolamine (54 %), phosphatidylcholine (31 %) and phosphatidylinositol (15 %), decrease the interfacial tension between oil and water, with similar behavior to that of soybean phospholipids. Emulsions prepared with avocado phospholipids were of the O/W type, with up to 60 vol.% of oil phase. Emulsions with 50 vol.% of oil phase with pH 3 and 7 showed stability of over one hour, and pseudoplastic fluid rheological behavior. In oscillatory analysis, the emulsions showed gel viscoelastic behavior. It was concluded that it is possible to extract phospholipids from the oil obtained from avocado of the Margarida cultivar, and that this product has interfacial properties and can be used in the preparation of O/W food emulsions.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 –	MAPA DA PRODUÇÃO MUNDIAL MÉDIA DE ABACATE ENTRE OS ANOS DE 2003 E 2013.....	20
FIGURA 1.2 –	ABACATEIRO (<i>Persea americana</i>) COM FRUTOS.....	20
FIGURA 1.3 –	ESTRUTURA QUÍMICA DE ALGUNS FOSFOLÍPÍDEOS ENCONTRADOS NOS ALIMENTOS.....	25
FIGURA 1.4 –	REPRESENTAÇÃO DE POLÍMEROS E TENSOATIVOS NA INTERFACE ÓLEO-ÁGUA DE UMA EMULSÃO, SENDO: (A) E (B) POLÍMEROS; (C) TENSOATIVOS.....	29
FIGURA 1.5 –	RELAÇÃO DE CAUSA E EFEITO ENTRE VARIÁVEIS, FENÔMENOS E PROPRIEDADES DAS EMULSÕES.....	30
FIGURA 1.6 –	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS EFEITOS DE INSTABILIDADE DE UMA EMULSÃO.....	31
FIGURA 1.7 –	COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE FLUIDOS INDEPENDENTES DO TEMPO.....	33
FIGURA 1.8 –	TESTE VISCOELÁSTICO DINÂMICO MECÂNICO, RESPOSTA DOS EXTREMOS CLÁSSICOS E DO MATERIAL.....	36
FIGURA 1.9 –	ESQUEMA DE UM TÍPICO SISTEMA DE TENSÍMETRIA DE ANÁLISE DE PERFIL DA GOTA.....	40
FIGURA 2.1 –	ABACATES DAS VARIEDADES: (A) MARGARIDA; (B) FORTUNA; (C)HASS.....	45
FIGURA 2.2 –	MICROGRAFIA DAS POLPAS DE ABACATE (1) MARGARIDA, (2) FORTUNA, E (3) HASS APÓS HOMOGENEIZAÇÃO A 9000 RPM POR 3 MINUTOS: (A) POLPA PURA; (B) POLPA COM ADIÇÃO DE 50 % (v/v) DE ÁGUA DESTILADA. APROXIMAÇÃO DE 1600 X.....	50
FIGURA 2.3 –	CURVA DE FLUXO DA POLPA DO ABACATE (A) PURA E (B) COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, HOMOGENEIZADAS, COM AJUSTE PELA EQUAÇÃO DE HERSCHEL-BULKLEY.....	51
FIGURA 2.4 –	CURVA DE VISCOSIDADE DA POLPA DO ABACATE (A) PURA E (B) COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, HOMOGENEIZADAS.....	52
FIGURA 2.5 –	FIGURA 2.5 – VARREDURA DE FREQUÊNCIA DA POLPA DO ABACATE (A) PURA E (B) COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, SENDO: ■ G' POLPA DA VARIEDADE MARGARIDA; ▣ G'' POLPA DA VARIEDADE MARGARIDA; ★ G' POLPA DA VARIEDADE FORTUNA; ☆ G'' POLPA DA VARIEDADE FORTUNA; ► G' POLPA DA VARIEDADE HASS; ▸ G'' POLPA DA VARIEDADE HASS.....	53
FIGURA 3.1 –	CURVAS DE TERMOGRAVIMETRIA (TG) E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) PARA AS AMOSTRAS: OCB – ÓLEO COMERCIAL BRUTO; OCR – ÓLEO COMERCIAL REFINADO; OEB – ÓLEO EXTRAÍDO BRUTO; E OED – ÓLEO EXTRAÍDO DEGOMADO.....	66

FIGURA 3.2 –	CURVAS DE FLUXO DOS ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), NAS TEMPERATURAS DE (A) 10 °C E (B) 20 °C.....	67
FIGURA 3.3 –	CURVAS DE VISCOSIDADE DOS ÓLEOS DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED) NAS TEMPERATURAS DE (A) 10 °C E (B) 20 °C.....	69
FIGURA 3.4 –	MICROPLACAS UTILIZADAS PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DE CRESCIMENTO PARA AS BACTÉRIAS <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosas</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> E <i>Escherichia coli</i> ...	70
FIGURA 4.1 –	TENSÃO INTERFACIAL DINÂMICA ENTRE ÁGUA E ÓLEO DE COLZA PURO E ÁGUA MILI-Q COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE.....	79
FIGURA 4.2 –	TENSÃO INTERFACIAL DINÂMICA ENTRE ÁGUA MILI-Q E ÓLEO DE COLZA, DOS FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE E DE SOJA NAS CONCENTRAÇÕES DE (A) 0,001 g L ⁻¹ ; (B) 0,005 g L ⁻¹ ; (C) 0,01 g L ⁻¹ ; (D) 0,05 g L ⁻¹ e 0,1 g L ⁻¹ , EM RELAÇÃO AO ÓLEO.....	81
FIGURA 4.3 –	TENSÃO INTERFACIAL ENTRE ÓLEO DE COLZA E ÁGUA EM RELAÇÃO AO TEMPO COM ALTERAÇÃO DA ÁREA SUPERFICIAL DA GOTA DE ÓLEO DE 33,5 A 36,5 mm ² , EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE.....	82
FIGURA 4.4 –	MÓDULO VISCOELÁSTICO EM RELAÇÃO À CONCENTRAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS DE SOJA E ABACATE, EM DIFERENTES TEMPOS DE OSCILAÇÃO.....	83
FIGURA 4.5 –	CURVAS DE TG E DTG PARA AS AMOSTRAS (A) FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE E (B) FOSFOLIPÍDEOS DA SOJA.....	84
FIGURA 5.1 –	MEDIDAS DE CONDUTIVIDADE DE EMULSÕES PREPARADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA, UTILIZANDO O FOSFOLIPÍDEO DO ABACATE.....	92
FIGURA 5.2 –	FOTO DAS EMULSÕES PREPARADAS COM 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA (20, 30, 40, 50, 60 E 70 % v/v) EM pH 7,0.....	93
FIGURA 5.3 –	MICROSCOPIAS ÓPTICAS OBTIDAS COM APROXIMAÇÃO DE 1008X, LOGO APÓS O PREPARO DE EMULSÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA (20, 30, 40, 50, 60 E 70 % v/v), COM 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS, PREPARADAS COM AGITAÇÃO DE 10.000 RPM POR 3 MINUTOS.....	96
FIGURA 5.4 –	MICROSCOPIAS ÓPTICAS OBTIDAS COM APROXIMAÇÃO DE 1008X, 24 HORAS APÓS O PREPARO DE EMULSÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA (20, 30, 40, 50, 60 E 70 % v/v), COM 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS, PREPARADAS COM AGITAÇÃO DE 10000 RPM POR 3 MINUTOS.....	97

FIGURA 5.5 –	DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE GOTAS PARA EMULSÕES COM CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA DE 20, 30, 40, 50, 60 E 70 % (v/v).....	98
FIGURA 5.6 –	DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE GOTAS (ESQUERDA) E MICROSCOPIAS COM APROXIMAÇÃO DE 1008X (DIREITA) PARA EMULSÕES PREPARADAS COM (A) 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEO E pH 3; (B) 2 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEO E pH 3; (C) 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEO E pH 7; (D) 2 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEO E pH 7.....	100
FIGURA 5.7 –	(A) CURVAS DE VISCOSIDADE, (B) CURVAS DE FLUXO, COM AJUSTE DO MODELO DE OSTWALD-DE WAELE, E (C) VARREDURAS DE FREQUÊNCIA PARA EMULSÕES O/A PREPARADAS COM 2 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE E 50 % DE FASE OLEOSA, NOS pHs 3 E 7.....	102

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 –	COMPARAÇÃO DE ALGUNS PARÂMETROS DAS RAÇAS DE ABACATE MEXICANA, GUATEMALENSE E ANTILHANA.....	21
TABELA 1.2 –	ESTUDOS RELACIONADOS A DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE.....	23
TABELA 1.3 –	COMPOSIÇÃO DE FOSFOLÍPÍDEOS DO ABACATE VARIEDADE HASS E DA SOJA.....	26
TABELA 2.1 –	ANÁLISE COMPARATIVA DA ANATOMIA DE FRUTOS DE ABACATE DAS VARIEDADES MARGARIDA, FORTUNA E HASS, DA SAFRA DE 2012.....	48
TABELA 2.2 –	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA POLPA, DO CAROÇO E DA CASCA DOS ABACATES DAS VARIEDADES MARGARIDA, FORTUNA E HASS, SAFRA 2012.....	48
TABELA 2.3 –	AJUSTES DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DA POLPA DE ABACATE PURA E COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, À EQUAÇÃO DE OSTWALD-DE WAELE.....	51
TABELA 2.4 –	COMPARAÇÃO DAS VISCOSIDADES DA POLPA DE ABACATE PURA E COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, A TAXAS DE CISALHAMENTO DE 1, 50 e 100 s ⁻¹	52
TABELA 2.5 –	VALOR DE MERCADO PARA VENDA DE ABACATES DAS VARIEDADES MARGARIDA, FORTUNA E HASS, PROPORÇÃO DE POLPA, CONCENTRAÇÃO DE ÓLEO NA POLPA E PREÇO POR LITRO DE ÓLEO.....	54
TABELA 3.1 –	RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES E TEOR DE FOSFOLÍPÍDEO NO ÓLEO E NA POLPA SECA.....	63
TABELA 3.2 –	TEOR DE UMIDADE E DENSIDADE DOS ÓLEOS DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED).....	64
TABELA 3.3 –	COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED).....	65
TABELA 3.4 –	AJUSTES DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DO CURVAS DE FLUXO DOS ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), À EQUAÇÃO DE OSTWALD-DE WAELE, NAS TEMPERATURAS DE 10 E 20 °C.....	68
TABELA 3.5 –	AJUSTES DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DO ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), À EQUAÇÃO DE HERSHEY-BULKLEY, NAS TEMPERATURAS DE 10 E 20 °C.....	68
TABELA 3.6 –	VISCOSIDADE APARENTE DOS ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), NAS TEMPERATURAS DE 10 E 20 °C, NAS TAXAS DE CISALHAMENTO DE 20, 30 E 40 s ⁻¹	69

TABELA 3.7 -	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), PARA O ENSAIO DE MICRODILUIÇÃO ELOFF.....	71
TABELA 4.1 -	COMPOSIÇÃO FOSFOLIPÍDEOS DA POLPA DO ABACATE DA VARIEDADE MARGARIDA, ANALISADOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA, EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA E COM O PERFIL DE FOSFOLIPÍDEOS DA SOJA.....	78
TABELA 5.1 -	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA O PREPARO DAS EMULSÕES.....	89
TABELA 5.2 -	ESTABILIDADE DAS EMULSÕES PREPARADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA, COM 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE.....	94
TABELA 5.3 -	AJUSTES DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS EMULSÕES PREPARADAS COM 2 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE, NOS pH 3 e 7, À EQUAÇÃO DE OSTWALD-DE WAELE E HERSCHEL-BULKLEY.....	101

LISTA DE ABREVIATURAS

A/O	Água em óleo
A/O/A	Água em óleo em água
BHL	Balanco hidrofílico-lipofílico
CIM	Concentração inibitória mínima
DHL	Desvio hidrofílico-lipofílico
DPT	Tensiometria de Análise de Perfil da Gota
DSD	Distribuição do tamanho de gota
DTG	Termogravimetria derivada
LPC	Lisofosfatidilcolina
PA	Ácido fosfatídico
PAF	Polpa com água variedade Fortuna
PAH	Polpa com água variedade Hass
PAM	Polpa com água variedade Margarida
PC	Fosfatidilcolina
PE	Fosfatidiletanolamina
PG	Fosfatidilglicerol
PI	Fosfatidilinositol
PL	Fosfolipídeos
PPF	Polpa pura variedade Fortuna
PPH	Polpa pura variedade Hass
PPM	Polpa pura variedade Margarida
PS	Fosfatidilserina
O/A	Óleo em água
O/A/O	Óleo em água em óleo
OCB	Óleo comercial bruto
OCR	Óleo comercial refinado
OEB	Óleo extraído bruto
OED	Óleo extraído degomado
SAD	Diferença de afinidade do tensoativo
SQR	Soma dos quadrados dos resíduos
TG	Termogravimetria

LISTA DE SÍMBOLOS

δ	ângulo de fase
A^*	área complexa
k_{oc}	constante do modelo de Casson
k_{om}	constante do modelo de Mizrahi-Berki
γ^0	deformação total do sistema
$ E^* $	elasticidade dilatacional interfacial complexa
n	índice de comportamento
μ_b	índice de consistência modelo Bingham
k_c	índice de consistência modelo Casson
k_{hb}	índice de consistência modelo Herschel Bulkley
k_{mb}	índice de consistência modelo Mizrahi-Berki
k_{lp}	índice de consistência modelo Ostwald-de Waelle
$ G^* $	módulo complexo
G'	módulo elástico
G''	módulo viscoso
E	módulo interfacial dilatacional
$\dot{\gamma}$	taxa de cisalhamento
τ	tensão de cisalhamento
τ_0	tensão de cisalhamento inicial
γ^*	tensão interfacial complexa
τ^0	tensão total do sistema
η	viscosidade aparente
η^*	viscosidade complexa

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
OBJETIVOS	17
<i>Objetivo Geral</i>	<i>17</i>
<i>Objetivos Específicos</i>	<i>17</i>
1 REVISÃO DA LITERATURA	19
1.1 ABACATE.....	19
1.2 COMPONENTES LIPÍDICOS DO ABACATE.....	21
1.2.1 Extração do óleo de abacate	22
1.2.2 Fosfolipídeos	24
1.3 EMULSÕES	26
1.3.1 Constituintes das Emulsões	28
1.3.2 Caracterização das Emulsões	30
1.3.2.1 Estabilidade	31
1.3.2.2 Tamanho de Gotas	32
1.3.2.3 Propriedades Reológicas	32
1.3.2.4 Propriedades Interfaciais	38
1.4 ESTADO DA ARTE	40
CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE ABACATE	42
2.1 INTRODUÇÃO	44
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	44
2.2.1 MATERIAIS	44
2.2.2 CARACTERIZAÇÃO DO ABACATE	45
2.2.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	47
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
2.3.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	48
2.3.2 ASPECTO MICROSCÓPICO	49
2.3.3 COMPORTAMENTO REOLÓGICO	50
2.3.4 DETERMINAÇÃO DA VARIEDADE DE ABACATE PARA SEQUÊNCIA DO TRABALHO	54
2.4 CONCLUSÕES	54
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE VARIEDADE MARGARIDA	56
3.1 INTRODUÇÃO	58
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	58
3.2.1 MATERIAIS	58
3.2.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE	59
3.2.3 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE E COMPARAÇÃO COM O ÓLEO COMERCIAL	60
3.2.3.1 Teor de Umidade	60
3.2.3.2 Densidade	60
3.2.3.3 Determinação do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa	60
3.2.3.4 Análise Termogravimétrica	60

3.2.3.5	<i>Comportamento reológico</i>	61
3.2.4.7	<i>Atividade antimicrobiana</i>	61
3.2.4.8	<i>Análises Estatísticas</i>	62
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.3.1	EXTRAÇÃO DO ÓLEO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS	62
3.3.2	CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO	64
3.3.2.1	<i>Perfil de Ácidos Graxos</i>	64
3.3.2.2	<i>Análises Térmicas</i>	66
3.3.2.3	<i>Comportamento Reológico</i>	67
3.3.2.4	<i>Análise Antimicrobiana do Óleo de Abacate</i>	70
3.4	CONCLUSÕES	72
	EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS DO ABACATE	73
4.1	INTRODUÇÃO	75
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS	75
4.2.1	EXTRAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS	75
4.2.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS	76
4.2.2.1	<i>Composição de Fosfolipídeos</i>	76
4.2.2.2	<i>Propriedades Interfaciais</i>	76
4.2.2.3	<i>Análise Termogravimétrica</i>	77
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
4.3.1	CARACTERIZAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS	78
4.3.2	PROPRIEDADES INTERFACIAIS.....	79
4.3.3	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	84
4.4	CONCLUSÃO	85
	UTILIZAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS DO ABACATE EM EMULSÕES	86
5.1	INTRODUÇÃO	88
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	88
5.2.1	MATERIAIS	88
5.2.2	PREPARO DAS EMULSÕES	89
5.2.3	ANÁLISE DAS EMULSÕES	90
5.2.3.1	<i>Estabilidade</i>	90
5.2.3.2	<i>Determinação do tipo de emulsão e intervalo de inversão de fase por condutividade</i> 90	
5.2.3.3	<i>Análise microscópica e Distribuição do Tamanho de Gota (DSD)</i>	90
5.2.3.4	<i>Comportamento reológico</i>	91
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
5.3.1	EMULSÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASES	91
5.3.2	EMULSÕES COM DIFERENTES pH E CONCENTRAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS	99
5.4	CONCLUSÕES	103
	CONCLUSÕES GERAIS	104
	REFERÊNCIAS	106

INTRODUÇÃO

O abacate, *Persea americana* Mill., originário da América Central, é cultivado em diversos países como Estados Unidos, México, Brasil e Indonésia. Segundo a FAO (*Food and Agriculture Organization*), em 2013, o Brasil ocupou a nona colocação na produção deste fruto. Ele pode ser consumido tanto *in natura*, quanto utilizado como matéria prima ou ingrediente para outros produtos. Entre os principais produtos do abacate, utilizados industrialmente, destaca-se seu óleo.

Diversos trabalhos relatam propriedades benéficas à saúde provenientes do óleo de abacate, devido principalmente à sua alta concentração de lipídeos insaponificáveis e de ácidos graxos insaturados. Desta forma, torna-se interessante a utilização deste óleo, tanto puro (por exemplo, na substituição do azeite de oliva), como na elaboração de produtos (por exemplo, em emulsões). Os processos utilizados para a extração do óleo de abacate interferem na sua composição e consequentemente em suas propriedades. Há uma constante busca por metodologias que forneçam um óleo de qualidade em relação às suas características sensoriais e químicas, com um baixo custo. Entre os métodos de extração do óleo de abacate estudados ao longo dos anos cita-se: centrifugação, enzimática, e solventes orgânicos (acetona, éter de petróleo, hexano, entre diversos outros).

Além do óleo, os fosfolipídeos podem ser obtidos a partir da fração lipídica do abacate. Estes compostos são normalmente retirados durante o processo de refino do óleo, na etapa de degomagem. Durante a extração enzimática, os fosfolipídeos são simplesmente descartados junto com a polpa residual.

Os fosfolipídeos são constituintes naturais das células animais e vegetais e possuem propriedades emulsificantes, podendo ser utilizados, portanto, em emulsões. As emulsões são definidas como sistemas no qual um líquido imiscível, está completamente disperso em outro na forma de gotículas. As emulsões estão presentes e exercem um papel importante na indústria de alimentos, de cosméticos e de fármacos, entre outras. Além disto, o interesse da indústria alimentícia vem crescendo em relação aos produtos naturais. A utilização de tensoativos naturais, como os fosfolipídeos do abacate, em substituição aos tensoativos sintéticos, como o monooleato de sorbitana (Span 80) e o polioxietileno monooleato de sorbitana (Tween 80), é uma opção para esta indústria de alimentos.

Este trabalho tem o objetivo de estudar o óleo de abacate como fonte de fosfolipídeos e o seu potencial tecnológico para a indústria de alimentos.

Desta forma, este texto é dividido em cinco capítulos mais considerações finais. No Capítulo 1 é feita uma revisão da literatura, no Capítulo 2 é apresentada a caracterização da polpa de abacate das variedades Margarida, Fortuna e Hass, no Capítulo 3 são abordados os métodos de extração e caracterização do óleo da polpa de abacate da variedade Margarida, seguido no Capítulo 4 pelo método de extração e caracterização dos fosfolipídeos do óleo desta variedade de abacate, no Capítulo 5 é estudada a utilização destes fosfolipídeos em emulsões, finalizando o texto com as considerações gerais do trabalho.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Realizar a caracterização de polpas de abacate das variedades Fortuna, Margarida e Hass e a avaliação de processos de extração a frio do óleo de abacate da variedade Margarida, com diferentes solventes, a fim de obter um óleo com alto teor de fosfolipídeos para uso em emulsões.

Objetivos Específicos

- Caracterizar a polpa de abacate das variedades Margarida, Fortuna e Hass, em relação à composição centesimal, caracterização reológica e aspecto microscópico;
- Avaliar processos de extração a frio do óleo de abacate da variedade Margarida, com diferentes solventes, a fim de obter um óleo com alto teor de fosfolipídeos;
- Determinar o perfil de ácidos graxos, teor de umidade, densidade, comportamento reológico, análise térmica e análise antibacteriana, do óleo de abacate;
- Extrair e quantificar os fosfolipídeos presentes no óleo de abacate, bem como realizar a caracterização de suas propriedades: composição, análise térmicas e propriedades interfaciais (tensão interfacial dinâmica e reologia interfacial), comparando com os fosfolipídeos da soja;
- Preparar emulsões utilizando diferentes concentrações dos fosfolipídeos do abacate, em diferentes pHs;
- Analisar estabilidade, condutividade, microscopia ótica, distribuição do tamanho de gota e comportamento reológico de emulsões preparadas com os fosfolipídeos do abacate.

CAPÍTULO I
REVISÃO DA LITERATURA

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 ABACATE

O abacate, *Persea americana* Mill., pertencente à família Lauraceae, é originário da América Central, de uma ampla área geográfica que se estende desde as montanhas do leste e centro do México até a Guatemala, pela costa do Pacífico. Atualmente este fruto é cultivado em diversos países como Estados Unidos, México, Indonésia, Brasil, Colômbia, Venezuela, entre outros. Segundo a FAOSTAT – *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (2015), em 2013 o maior produtor mundial de abacate foi o México, seguido pela República Dominicana, neste período o Brasil ocupou a nona colocação, produzindo 163 mil toneladas deste fruto, destes 16 mil toneladas foram produzidas no estado do Paraná (IBGE, 2015). As árvores de abacate atingem 20 m de altura e suas raízes podem chegar a 4 metros (WHILEY, 1992; WHILEY; SCHAFFER; WOLSTENHOLME, 2002). A Figura 1.1 apresenta uma mapa da produção mundial média de abacate entre 2003 e 2013.

São conhecidas três espécies botânicas ou raças hortícolas de abacate, a Mexicana, a Guatemalense e a Antilhana ou das Índias Orientais, cada uma delas possui diferentes condições de adaptação e diferentes características, algumas destas características para as três raças de abacate são apresentadas na Tabela 1.1. Os primeiros cultivares de abacates introduzidos no Brasil foram da raça das Índias Orientais em 1809, nos estados do Amazonas e Pará. Anos mais tarde demais variedades foram difundidas por todo o país. A cultivar Fortuna é um híbrido entre as raças das Índias Orientais e Guatemalense, enquanto que a cultivar Hass, uma das mais produzidas atualmente no mundo, é um híbrido das raças Guatemalense e Mexicana. A cultivar Margarida é da raça Guatemalense, o abacateiro desta cultivar é apresentado na Figura 1.2. Outras cultivares de abacate encontradas no Brasil são: Linda, Wagner, Prince, Geada, Quintal, Ouro Verde, entre diversas outras (WILTBANK, 1977; WHILEY, 1992; WHILEY; SCHAFFER; WOLSTENHOLME, 2002).

O consumo do abacate varia em diferentes regiões. Na Guatemala e países vizinhos, este é um fruto tradicional, o qual é consumido diariamente pela população. No México e mais alguns países, ele é utilizado como ingrediente em pratos típicos, principalmente o “Guacamole”. Em alguns países, incluindo o Brasil, o abacate é consumido como sobremesa, podendo ser adicionado sacarose e outros ingredientes para o seu preparo (WHILEY; SCHAFFER; WOLSTENHOLME, 2002). Atualmente o consumo do abacate processado,

vem crescendo em outras regiões, como, por exemplo, Espanha, e alguns países da América do Sul (GONZÁLEZ-FERNANDES et al., 2015).

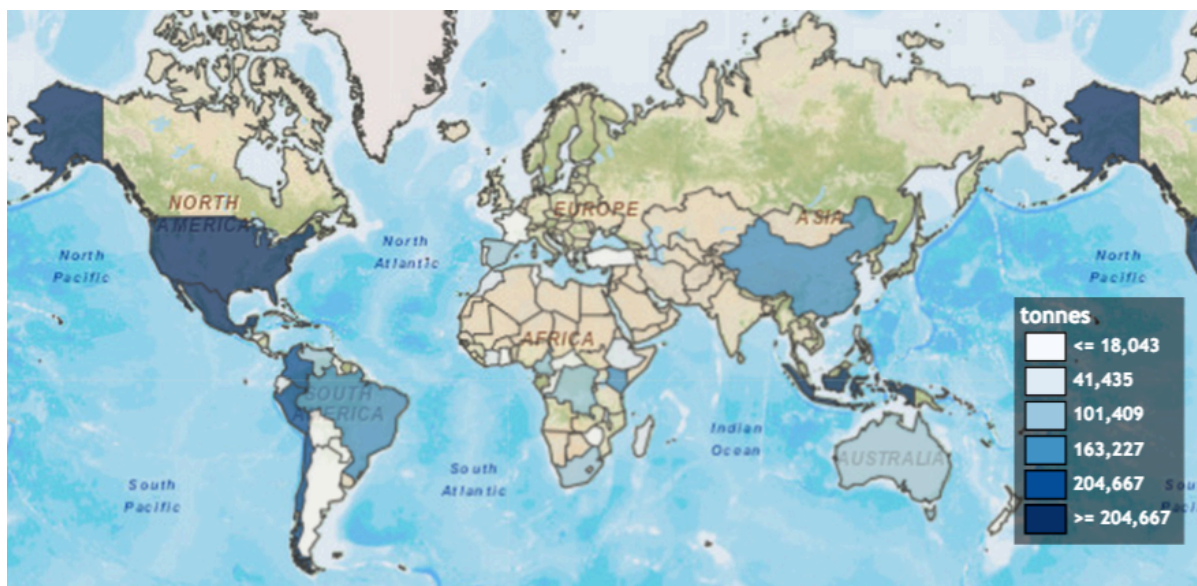


FIGURA 1.1 – MAPA DA PRODUÇÃO MUNDIAL MÉDIA DE ABACATE ENTRE OS ANOS DE 2003 E 2013.

FONTE: FAOSTAT (2015)



FIGURA 1.2 – ABACATEIRO (*Persea americana*) COM FRUTOS.

TABELA 1.1 – COMPARAÇÃO DE ALGUNS PARÂMETROS DAS RAÇAS DE ABACATE MEXICANA, GUATEMALENSE E ANTILHANA.

	Mexicana	Guatemalense	Antilhana ou Índias Orientais
Origem	México	Guatemala	Antilhas
Adaptação Climática	Subtropical	Subtropical	Tropical
Resistência a baixas temperatura	-4,0 a -3,0 °C	-4,0 a -2,0 °C	-2,0 a -1,0 °C
Tolerância a salinidade	Média	Alta	Baixa
Alternância de Produção	Pouco Intenso	Intenso	Pouco Intenso
Tamanho da folha	Pequena	Grande	Muito Grande
Cor da folha	Verde	Verde	Verde clara
Forma do fruto	Maioria alongado	Maioria redondo	Variado

FONTE: GARDIAZABAL (1998)

Vários estudos vêm sendo feitos sobre os benefícios do abacate na alimentação. Em um artigo de revisão publicado por Ding et al. (2007) é apresentado que compostos fitoquímicos presentes na polpa destes frutos podem apresentar vantagens em dietas para a prevenção de câncer, pois inúmeros componentes presentes inibiram o crescimento de células anômalas do pulmão, da próstata e das mamas. Em Lu et al. (2005) também é relatado que o extrato com acetona obtido da polpa de abacate, diminui riscos de câncer de próstata. Neste último trabalho também é apresentado que o abacate é uma fonte rica em carotenoides, principalmente luteína (entre 232 a 362 $\mu\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), e de tocoferóis (2537 a 3237 $\mu\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$). Outro estudo feito por Rocha (2008) mostra que abacates das variedades Wagner, Fortuna, Hass e Fuerte são ricos em ácido oleico ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$) e β -sitosterol ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$).

1.2 COMPONENTES LIPÍDICOS DO ABACATE

O abacate é conhecido como um fruto que possui alta concentração de lipídeos em sua polpa. Porém esta quantidade de lipídeos varia com as cultivares de abacate, diferenças geográficas, condições climáticas, tempo de colheita entre outros. A raça das Índias Orientais possui entre 2,5 a 8,0 % de lipídeos, a Guatemalense possui entre 10,0 e 13,0 %, e a Mexicana de 15,0 a 25,0 % (GÓMEZ-LÓPEZ, 2002; OZDEMIR; TOPUZ, 2004; WHILEY; SCHAFFER; WOLSTENHOLME, 2002).

As estruturas que contêm os lipídeos no abacate são as células de óleo idioblásticas. Essas células são redondas ou poliédricas, têm diferentes tamanhos, e contem uma única gota de lipídeo. As células de óleo são distribuídas através do mesocarpo e rodeadas de células de parênquima, arranjadas em forma de anel. Uma célula lipídica idioblástica tem diâmetro

superior a 80 μm , e a parede celular tem 4 μm de espessura, as paredes das células de parênquima tem espessura de 2,5 μm (ORTIZ-MORENO *et al.*, 2004).

Os lipídeos presentes no mesocarpo do abacate são ricos em ácidos graxos monoinsaturados, principalmente o ácido oleico, em torno de 60 %, além deste, possui quantidades significativas dos ácidos graxos: palmítico (20 %), linoleico (10 %), palmitoleico (5 %) e esteárico (0,5 %). Estas quantidades variam também com o método de extração utilizado (BERASATEGI *et al.*, 2012; TURATTI *et al.*, 1985).

O extrato bruto de lipídeos do abacate é utilizado principalmente na indústria de cosméticos, quando refinado, ou seja, quando feita a remoção de componentes lipídicos minoritários que podem afetar a qualidade do óleo, podem ser utilizados também na indústria de alimentos, tanto na elaboração de produtos, como para consumo direto. A indústria de fármacos também utiliza a fração lipídica, ou seja, incluindo o óleo, os insaponificáveis, entre outros, na elaboração de produtos (WERMAN; NEEMAN, 1987; BAE; LEE, 2008).

Além dos ácidos graxos, outros constituintes são encontrados na fração lipídica do mesocarpo de abacates, como os fosfolipídeos, os ácidos graxos insaponificáveis, os fitoesteróis, e outros compostos bioativos, incluindo carotenoides, alcoóis alifáticos, alcoóis terpênicos, tocoferóis e esqualeno (SANTOS *et al.*, 2014).

1.2.1 Extração do óleo de abacate

Os métodos de extração de óleo de abacate vem sendo estudados há várias décadas. Desde 1976 vários trabalhos têm sido realizados em relação a novos métodos de extração, buscando alternativas mais naturais, como a não utilização de solvente, e mais eficientes, e estudando a influência de parâmetros como temperatura, pH, além de comparação com métodos já utilizados.

O processo de extração influenciará amplamente nas características do óleo. Compostos voláteis, índice de acidez, teor de fosfolipídeos e insaponificáveis, perfil de ácidos graxos, compostos bioativos entre inúmeras outras características estarão ligados a como será a interação e afinidades do solvente com o óleo e demais compostos lipossolúveis. A seguir, na Tabela 1.2, são relatados diversos estudos sobre processos de extração de óleo de abacate.

TABELA 1.2 – ESTUDOS RELACIONADOS A DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE.

Método/Solvente	Parâmetros avaliados	Rendimento de Óleo	Referencia
Extração com solvente (Metanol: Clorofórmio)	Composição de ácidos graxos e insaponificáveis	37,35% da polpa seca	Gutierrez (1976)
Extração com solvente (Éter de petróleo)	Composição de ácidos graxos e insaponificáveis	35,29% da polpa seca	Gutierrez (1976)
Extração com solvente (Acetona)	NA	NA	Curiel (1985)
Extração enzimática	Influência da temperatura e na concentração de polpa no rendimento	Até 73,8% da quantidade total de óleo	Buenrostro; Lopez; Munizaga (1986)
Centrifugação	pH, temperatura e concentração de sal	56,6 – 72,7% da quantidade total de óleo	Werman; Neeman (1987)
Calor e Centrifugação	Temperatura, pH, concentração de polpa, velocidade de centrifugação, adição de sal	Até 80% em relação a quantidade total de óleo	Bizimana; Breene; Csallany (1993)
Extração por micro-ondas	Índices de refração, iodo, saponificação, acidez, ponto de fumaça, viscosidade, cor, ácidos graxos, compostos voláteis e outros	Até 65,2% da polpa seca	Ortiz-Moreno et al. (2003)
Extração com solvente	Índices de refração, iodo, saponificação, acidez, ponto de fumaça, viscosidade, cor, ácidos graxos, compostos voláteis e outros	Até 54% da polpa seca	Ortiz-Moreno et al. (2003)
Extração por micro-ondas	Microestrutura da polpa	67 % na polpa seca	Ortiz-Moreno et al. (2004)
Extração com solvente	Microestrutura da polpa	59 % na polpa seca	Ortiz-Moreno et al. (2004)
Centrifugação	Formação de ácido graxo <i>trans</i>	38,3 % da quantidade total de óleo	Ortega et al, (2011)
Extração com solvente (hexano extração a frio)	Formação de ácido graxo <i>trans</i>	58 % da quantidade total de óleo	Ortega et al, (2011)
Extração com solvente (hexano – extração a quente)	Formação de ácido graxo <i>trans</i>	78 % em relação à quantidade total de óleo	Ortega et al, (2011)
Extração com solvente (metanol)	Influência do tempo e da temperatura no rendimento	14,74 % na polpa seca	Galvão et al. (2013)
Extração com solvente (etanol)	Influência do tempo e da temperatura no rendimento	66,54 % na polpa seca	Galvão et al. (2013)
Prensagem a frio	Compostos bioativos	24,83 – 33,21 % na polpa seca	Santos et al. (2014)
Extração com solvente (éter de petróleo)	Compostos bioativos	45,20 – 56,68 % na polpa seca	Santos et al. (2014)
Micro-ondas + Prensagem	Estabilidade oxidativa, ácidos graxos e termogravimetria	55,7 % da polpa seca	Santana et al. (2015)
Prensagem (polpa seca em estufa 60 °C ou a 45 °C + enzima)	Estabilidade oxidativa, ácidos graxos e termogravimetria	61,2 e 50,4 % da polpa seca	Santana et al. (2015)
Extração com solvente – eter de petróleo (polpa seca em estufa a °C ou a 45 °C + enzima)	Estabilidade oxidativa, ácidos graxos e termogravimetria	55,8 e 44,2 % da polpa seca	Santana et al. (2015)
Extração com solvente – etanol (polpa seca em estufa a 60 °C)	Estabilidade oxidativa, ácidos graxos e termogravimetria	44,2 % da polpa seca	Santana et al. (2015)

NOTA: NA – Não aplicável

Além destes, outros estudos e patentes foram feitos em relação a extração do óleo de abacate. Porém há uma constante busca por metodologias de extração que forneçam um óleo de alta qualidade com relação às suas propriedades físico-químicas, e com menor perda de nutrientes (SANTOS et al., 2014). Muitos casos de extração sem solvente, alguns componentes como o fosfolipídeo, não são retirados.

1.2.2 Fosfolipídeos

Os fosfolipídeos (PL) são modificações dos triacilgliceróis, nos quais são encontrados grupos fosfatos, conforme Figura 1.3. Nas plantas, os PLs são encontrados em pequenas quantidades nas membranas celulares das células e servem principalmente como elementos estruturais (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Os fosfolipídeos mais comuns são ésteres de glicerol, e devido a isto são chamados de glicerofosfolipídeos. Eles são derivados do 1,2-diacilglicerol, onde o grupo fosforil está ligado ao átomo de carbon *sn*-3. Tal derivação é chamada fosfatidil. Se nenhum outro resíduo está ligado ao grupo fosforil, ácido fosfatídico é formado (POKORNY, 2006).

Em 1812, Uauquelin conseguiu isolar fosfolipídeos do cérebro humano. Em 1846, Goble isolou fosfolipídeos da gema do ovo, e, a partir disto, surgiu o nome lecitina, que vem do grego *lekithos* que significa “gema do ovo”, que foi a primeira fonte de extração comercial de fosfolipídeos. Atualmente o termo lecitina pode incluir três definições, a primeira, de uma perspectiva comercial, na qual inclui os diversos fosfolipídeos, fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), e outros, além de triglicerídeos, ácidos graxos e carboidratos, a segunda de um ponto de vista histórico, a qual se refere aos fosfolipídeos isolados da gema do ovo, e a terceira, do ponto de vista científico, no qual lecitina se refere a PC (SZUHAJ, 1989; PICHOT; WATSON; NORTON, 2013; LI et al., 2015).

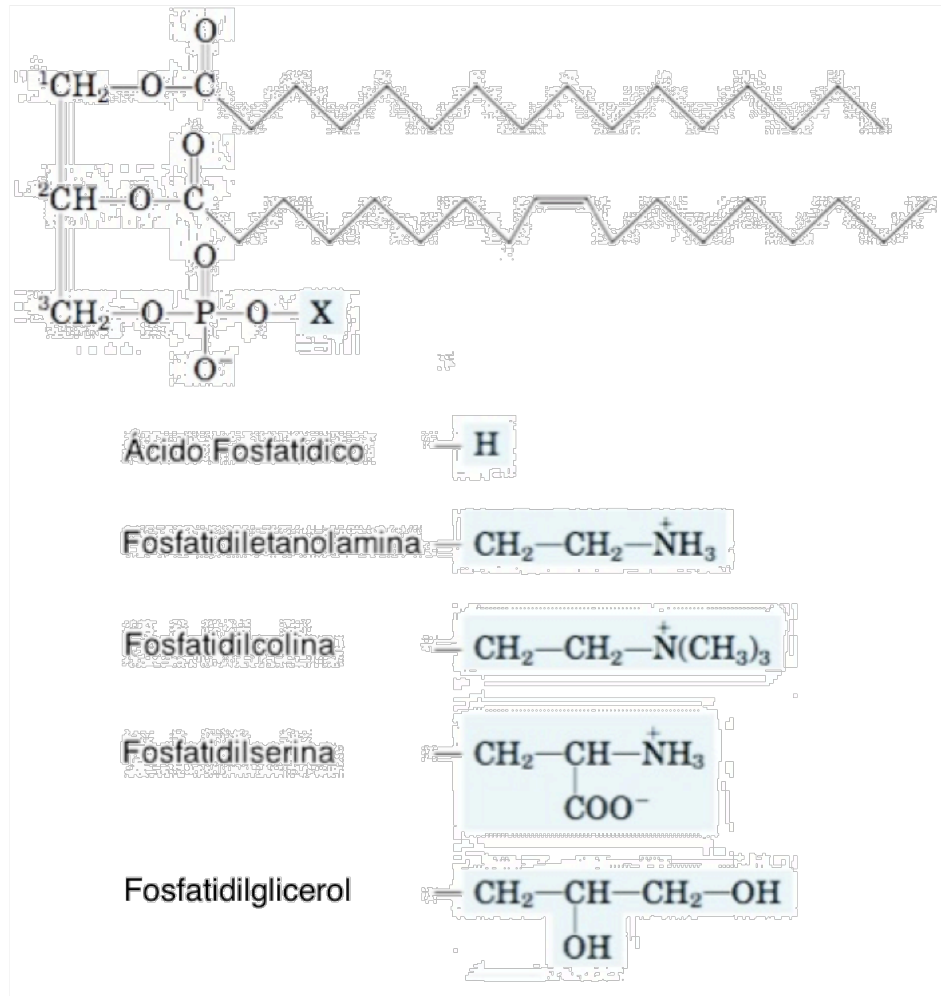


FIGURA 1.3 – ESTRUTURA QUÍMICA DE ALGUNS FOSFOLIPÍDEOS ENCONTRADOS NOS ALIMENTOS.

FONTE: Modificado de NELSON e COX (2013)

A presença do grupo fosfato, altamente polar, torna os PLs compostos tensoativos, ou seja que possuem atividade de superfície. Esta atividade de superfície permite que os PLs se organizem em bicamadas, as quais são determinantes para as propriedades das membranas biológicas. Os ácidos graxos presentes nos PLs são geralmente insaturados para a prevenção da cristalização das membranas celulares à temperatura ambiente. Além disso, a atividade tensoativa, possibilita que os PLs sejam utilizados para a modificação das propriedades físicas dos lipídeos, atuando na modificação do comportamento de cristalização ou como agentes emulsificantes (ARAÚJO, 2004; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

O grão de soja apresenta, em geral, de 0,3 a 0,6 % de fosfolipídeos, enquanto seu óleo possui de 1,5 a 3,0 % (LIU; MA, 2011). O óleo de abacate apresenta de 0,7 a 2,1 % de fosfolipídeos (TAKENAGA et al, 2008). A comparação entre a composição de PLs da soja e do abacate é apresentada na Tabela 1.3. A principal diferença de concentração está na alta concentração de PE e baixa concentração de PI nos PLs do abacate em comparação aos da

soja.

TABELA 1.3 – COMPOSIÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS DO ABACATE VARIEDADE HASS E DA SOJA.

	Fosfolipídeos do Abacate	Fosfolipídeos da Soja
Ácido Fosfatídico (PA)	11,4 %	6,4 %
Fosfatidiletanolamina (PE)	38,6 %	14,1 %
Fosfatidilglicerol (PG)	7,0 %	1 %
Fosfatidilcolina (PC)	34,8 %	33 %
Fosfatidilinositol (PI)	1,1 %	16,8 %
Outros	7,1 %	19,7 %

FONTE: TAKENAGA et al. (2008); SZUHAJ (1989).

As moléculas de PC e de PE contêm uma carga positiva no grupo colina (para a PC) e no grupo etanolamina (para a PE), e uma carga negativa no grupo fosfato (Figura 1.3). PC e PE são tensoativos zwitteriônicos, e são eletricamente neutros em pH neutro. O PI tem carga líquida negativa em pH neutro e é um tensoativo aniônico. A PC tende a facilitar a formação de emulsões óleo-em-água (O/A), enquanto que PE, e em menor extensão PI tendem a facilitar a formação de emulsões água-em-óleo (A/O). A mistura destes fosfolipídeos, portanto, não é própria necessariamente para estabilizar emulsões O/A ou A/O. O tipo da emulsão formada irá depender de outros fatores como temperatura, pH, concentração de sal e razão óleo-água (XU et al, 2011).

1.3 EMULSÕES

Uma emulsão consiste em uma mistura de dois líquidos imiscíveis em que um deles (fase dispersa) forma pequenas gotas no outro (fase contínua). As emulsões estão amplamente presentes em produtos alimentícios, como leite, cremes, maionese, manteiga, margarina, entre outros. Elas apresentam propriedades físico-químicas e sensoriais bastante variadas, por exemplo, enquanto o leite é um fluido de baixa viscosidade branco, alguns cremes são géis de diferentes cores, e a margarina um semissólido amarelo (McCLEMENTS, 1999; MERRYWEATHER, 2005; ROBINS; WATSON; WILDE, 2002).

As emulsões podem ser classificadas de diversas formas. Uma maneira de classificá-las é de acordo com o tipo de fase dispersa e fase contínua. Neste caso, uma emulsão em que a fase oleosa está dispersa em uma fase aquosa é chamada óleo em água (O/A), a emulsão em que a água é a fase dispersa e o óleo a fase contínua é chamada de água em óleo (A/O). Estes dois tipos de emulsão são chamadas emulsões simples, pois possuem apenas uma fase interna e uma fase externa (PAL, 2011).

As emulsões múltiplas possuem mais de uma fase dispersa, ou seja, são “emulsões de emulsões”, estas podem ser classificadas como: água em óleo em água (A/O/A), quando gotas de água estão dispersas em gotas de óleo que estão dispersas na fase externa água; ou, óleo em água em óleo (O/A/O), onde gotas de óleo estão dispersas em gotas de água que estão dispersas no óleo (PAL, 2011).

Outra classificação que as emulsões recebem é quanto ao seu tamanho de gota. De acordo com McClements e Rao (2013), as emulsões ou macroemulsões são consideradas as que apresentam gotas com diâmetro entre $0,1\ \mu\text{m}$ e $100\ \mu\text{m}$, estas são opacas ou turvas e são instáveis termodinamicamente. As nanoemulsões possuem gotas com diâmetro inferior a $0,2\ \mu\text{m}$ e as microemulsões com diâmetro inferior a $0,1\ \mu\text{m}$. As nanoemulsões são instáveis termodinamicamente, mesmo apresentando estabilidade por longos períodos, enquanto as microemulsões apresentam estabilidade termodinâmica. Nas microemulsões a energia livre das fases óleo e água separadas é maior que a da emulsão formada, assim ela tende a formar-se espontaneamente. Além disso, um determinado sistema só pode existir como uma microemulsão sob um determinado conjunto de condições ambientais (por exemplo, composição e temperatura) e, se essas condições são alteradas, então ele pode não ser mais termodinamicamente estável.

O processo de emulsificação consiste na dispersão de um líquido em outro, criando uma interface. O tamanho de gota da emulsão formada irá influenciar nas propriedades das emulsões. Desta maneira, o processo de emulsificação é importante para um melhor controle das características da emulsão. Alguns métodos utilizados industrialmente são: agitadores de alta velocidade, moinhos coloidais, homogeneizadores de alta pressão, microcanais, membranas, emulsificação espontânea e inversão de fases (LEAL-CALDERON; SCHMITT; BIBETTE, 2007; McCLEMENTS, 1999).

1.3.1 *Constituintes das Emulsões*

As emulsões são constituídas por, no mínimo, três fases: fase oleosa, fase aquosa e fase intermediária (algumas emulsões podem conter mais fases, por exemplo, emulsões múltiplas). Para entender as propriedades das emulsões, é necessário conhecer as propriedades de cada uma destas fases, tanto individualmente como em conjunto (DALGLEISH, 2006; LEAL-CALDERON; TRIVILLIERS; SCHMITT, 2007; McCLEMENTS, 1999).

Nas emulsões alimentícias, a fase aquosa possui, além da água, outros constituintes hidrossolúveis, como sais, carboidratos, vitaminas hidrossolúveis, entre outros. As moléculas de água fazem interações entre si e com outras moléculas, as quais podem ser por ligações hidrogeniônicas, interação dipolo-dipolo e força de Van der Waals (ARAUJO, 2004).

A fase oleosa, assim como a fase aquosa, pode conter outros constituintes além do triacilgliceróis, entre eles ácidos graxos livres, vitaminas lipossolúveis, esteróis, entre outros. As principais alterações que podem ocorrer na fase oleosa são: cristalização e oxidação. A cristalização altera as propriedades das emulsões, pois durante a formação dos cristais há um enfraquecimento ou até a quebra da interface óleo/água aumentando a instabilidade da emulsão. Além disto, a cristalização altera o aspecto visual da emulsão formada. A oxidação lipídica irá influenciar pela alteração em sabor e aroma, além da perda nutricional pela degradação de alguns compostos (ARAUJO, 2004; DALGLEISH, 2006; RAMALHO; JORGE, 2006).

A fase intermediária é composta por tensoativos (surfatantes) ou polímeros (como a carboximetilcelulose), que atuam reduzindo a tensão interfacial. A Figura 1.4 mostra uma representação de como as moléculas de tensoativos e polímeros podem estar distribuídas na interface de uma emulsão. A principal característica destes compostos é possuir em sua molécula regiões polares e regiões apolares. As regiões polares possuem maior afinidade com a fase aquosa, enquanto que as regiões apolares possuem maior afinidade com a fase oleosa (McCLEMENTS, 1999, MERRYWEATHER, 2005; ROBINS; WATSON; WILDE, 2002; SJÖBLOM, 2001; WHITEHURST, 2004).

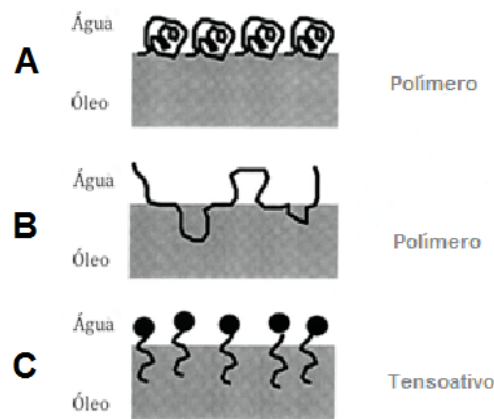


FIGURA 1.4 – REPRESENTAÇÃO DE POLÍMEROS E TENSOATIVOS NA INTERFACE ÓLEO-ÁGUA DE UMA EMULSÃO, SENDO: (A) E (B) POLÍMEROS; (C) TENSOATIVOS.
FONTE: McCLEMENTS (1999)

Os tenssoativos atuam nas emulsões diminuindo a tensão interfacial entre a fase aquosa e a fase oleosa e aumentando a viscosidade interfacial. A diminuição da tensão interfacial ocorre, pois, quando o tenssoativo é adsorvido na interface surgem forças de expansão que agem contra a tensão interfacial normal. A viscosidade interfacial irá auxiliar na resistência mecânica das gotas, portanto um aumento nesta viscosidade irá diminuir a coalescência das gotas da emulsão (SCHRAMM, 1992).

Os tenssoativos podem ser classificados em aniônicos, catiônicos, não-iônicos e zwiteriônicos (anfóteros). Os tenssoativos aniônicos possuem cargas negativas em sua molécula, já os catiônicos, cargas positivas, os não-iônicos não possuem cargas, e os zwiteriônicos possuem cargas positivas e negativas. Os fosfolipídeos, presentes no abacate, são em grande maioria zwiteriônicos, possuindo cargas positivas e negativas, como a PC e a PE (SCHRAMM, 1992).

Alguns conceitos são utilizados para explicar a ação dos tenssoativos nas emulsões. Um dos mais utilizados é o balanço hidrofílico-lipofílico (BHL), o qual foi proposto por Griffin em 1949. Este pode ser definido como: “tenssoativos são moléculas que combinam grupos hidrofílico e lipofílico. O balanço das massas destes dois grupos opostos é chamado BHL. Por conveniência, o balanço efetivo destes dois grupos recebe um valor numérico”. Ele é utilizado para tenssoativos não-iônicos, porém em alguns casos utiliza-se para alguns que não estão neste grupo (PASQUALI; TAUROZZI; BREGNI, 2008).

Os tenssoativos com BHL entre 3 e 6 são predominantemente hidrofóbicos, entre 8 e 18 são predominantemente hidrofílicos. Cada aplicação em particular tem um BHL ideal (ARAUJO, 2004; MORRISON; ROSS, 2002).

Outros conceitos utilizados para classificar os tensoativos são: desvio hidrofilico-lipofílico (DHL), que é o desvio do tensoativo do seu estado de referência; e SAD (diferença de afinidade do tensoativo), que é a diferença entre o potencial químico padrão do tensoativo na fase oleosa e na fase aquosa. Tanto para o DHL quanto para o SAD, quando o valor for igual a zero a afinidade do tensoativos está em equilíbrio entre as duas fases, caso seja negativa, há uma maior afinidade pela fase aquosa e quando positivo, maior afinidade pela fase oleosa (SALAGER et al., 2000; SALAGER et al., 2004; ZAMBRANO et al., 2003).

1.3.2 Caracterização das Emulsões

As emulsões podem ser caracterizadas por diversos fatores, entre eles: estabilidade, tamanho de gota, propriedades interfaciais, propriedades reológicas. Estas propriedades estão relacionadas entre si e exercem influência sobre diversas características da emulsão (SALAGER, 1999). A Figura 1.5 faz um resumo destes fatores.

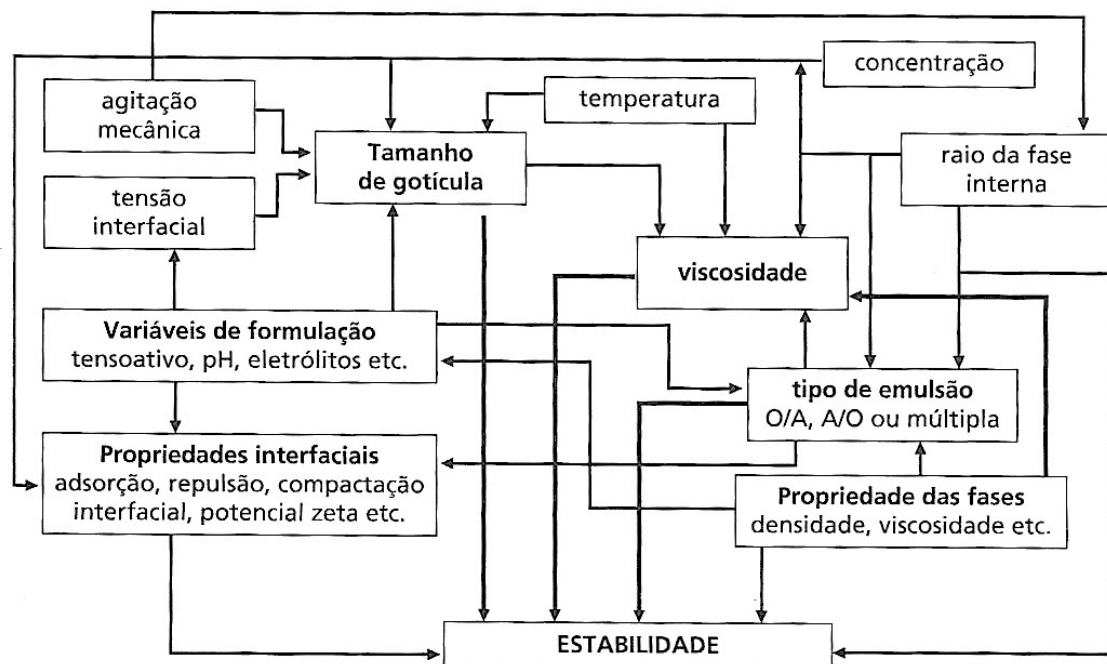


FIGURA 1.5 – RELAÇÃO DE CAUSA E EFEITO ENTRE VARIÁVEIS, FENÔMENOS E PROPRIEDADES DAS EMULSÕES.

FONTE: SALAGER (1999)

Além das variáveis apresentadas acima, mais algumas podem ser citadas. Entre as variáveis de formulação estão as características das fases aquosa e oleosa. Além dos tipos de emulsões apresentadas na Figura 1.5, a formação de micro ou nanoemulsões também irá influenciar as diversas propriedades.

1.3.2.1 Estabilidade

A estabilidade de uma emulsão é definida como a sua capacidade de resistir a mudanças nas suas propriedades físico-químicas e sensoriais em função do tempo. Os principais mecanismos de instabilidade são: *creaming*, sedimentação, floculação, coalescência, inversão de fases e maturação de Ostwald, como é apresentado na Figura 1.6 (McCLEMENTS, 1999; SJÖBLOM, 2001).

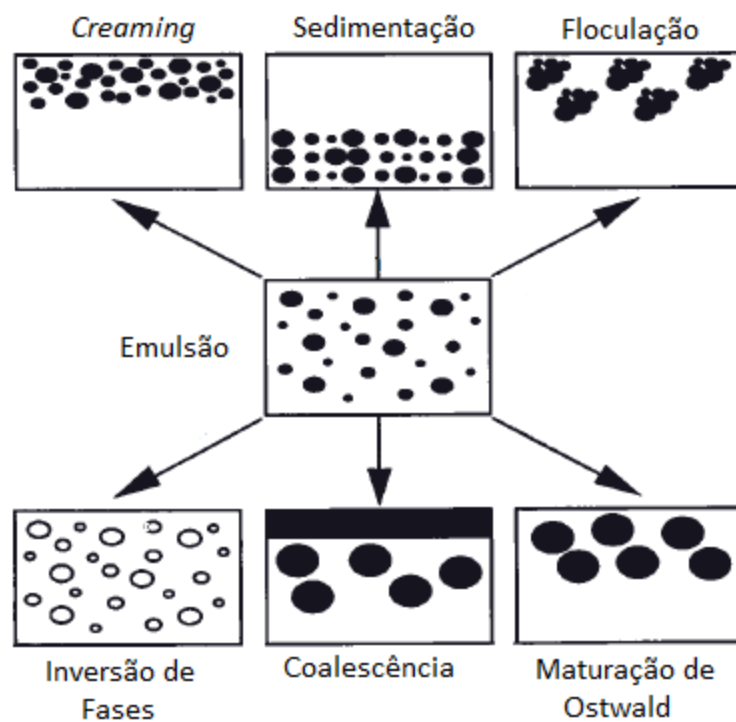


FIGURA 1.6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS EFEITOS DE INSTABILIDADE DE UMA EMULSÃO.

FONTE: TADROS (2010)

Creaming e sedimentação são mecanismos de separação gravitacional. Quando a fase dispersa da emulsão possui densidade menor que a fase contínua, as gotas sobem, ocorrendo o *creaming*. No caso inverso, ou seja, quando a fase dispersa é mais densa que a fase contínua e as gotas descem, é chamado sedimentação (McCLEMENTS, 1999; McCLEMENTS, 2007).

Uma emulsão apresenta floculação quando duas ou mais gotas formam um agregado, porém sem que estas gotas formem uma única gota maior. A coalescência é o mecanismo no qual duas ou mais gotas se fundem formando uma única gota maior, porém com menor área interfacial total (McCLEMENTS, 1999; McCLEMENTS, 2007; SCHRAMM, 1992).

A maturação de Ostwald é o fenômeno em que as gotas menores se fundem nas maiores devido a diferença de potencial químico entre gotas de diferentes tamanhos, isto ocasiona um aumento das gotas de maior tamanho, ocorrendo assim a separação das fases da emulsão (TAYLOR, 1998).

A inversão de fases é o fenômeno no qual uma emulsão A/O torna-se O/A, ou vice-versa. Isto pode ser considerado um mecanismo de instabilidade, pois a emulsão irá perder suas características originais. Esta inversão ocorre devido a diversos fatores, como formulação das emulsões, temperatura, processamento entre outros (McCLEMENTS, 1999; SALAGER et al. 2000; SALAGER, 2006).

1.3.2.2 Tamanho de Gotas

As emulsões alimentícias possuem gotas com diâmetros variando entre 0,1 e 100 μm . Muitas vezes não é indicado utilizar apenas tamanho de gota para caracterizar uma emulsão, pois normalmente há uma distribuição no tamanho de gotas (DSD – *droplet size distribution*). A representação da DSD é normalmente feita através de histograma, ou ainda pode ser representada por uma tabela com faixas de tamanhos de gotas (McCLEMENTS, 1999; SCRAMM, 2005).

Quando as emulsões são formadas, com a caracterização da DSD, é possível obter informações sobre a eficiência do processo de emulsificação, e realizar o monitoramento das mudanças desta característica com o tempo, as quais podem ser correlacionadas com a estabilidade da emulsão formada. Portanto, a determinação da DSD deve ser uma parte do processo de controle de qualidade (SJÖBLOM, 2001).

Alguns métodos para determinação da DSD são microscopia ótica, turbidimetria, espalhamento de luz dinâmico, espectroscopia ultrassônica, entre outros (McCLEMENTS; COUPLAND, 1996; NI; ZANG; MUSTAFA, 1998; SCHRAMM, 2005).

1.3.2.3 Propriedades Reológicas

Reologia é a ciência que estuda a deformação e o escoamento da matéria, ou seja, a maneira com que um material reage quando aplicada uma determinada tensão. Na indústria de alimentos um controle do comportamento reológico de produtos como maionese, molhos de salada e sobremesas, é muito importante por diversos motivos, entre eles: relação à atributos sensoriais e vida de prateleira, obtenção de informações que podem ser usadas pelos

engenheiros no projeto de processos, entre outros (McCLEMENTS, 1999; STEFFE, 1996; TADROS, 2010; BIRDS; STEWART; LIGHTFOOT, 2002).

a) Comportamento Reológico

O comportamento dos fluidos pode ser dividido inicialmente em Newtoniano e não-Newtoniano. Os fluidos Newtonianos apresentam taxa de cisalhamento diretamente proporcional à tensão de cisalhamento, com início do gráfico na origem, ou seja, obedecem a lei de Newton (Equação 1.1) (RAO, 2007; TADROS, 2010).

$$\tau = \eta(\dot{\gamma}) \quad (1.1)$$

onde:

τ = tensão de cisalhamento (Pa)

η = viscosidade (Pa.s)

$\dot{\gamma}$ = taxa de cisalhamento (s^{-1})

Os fluidos não-Newtonianos, por sua vez, podem ser divididos em dependentes do tempo e independentes do tempo. Os fluidos independentes do tempo são: pseudoplástico, dilatante, plástico de Bingham e Herschel-Bulkley (Figura 1.7). Os dependentes do tempo são: reopético e tixotrópico (SHARMA; MULVANEY; RIZVI, 2000).

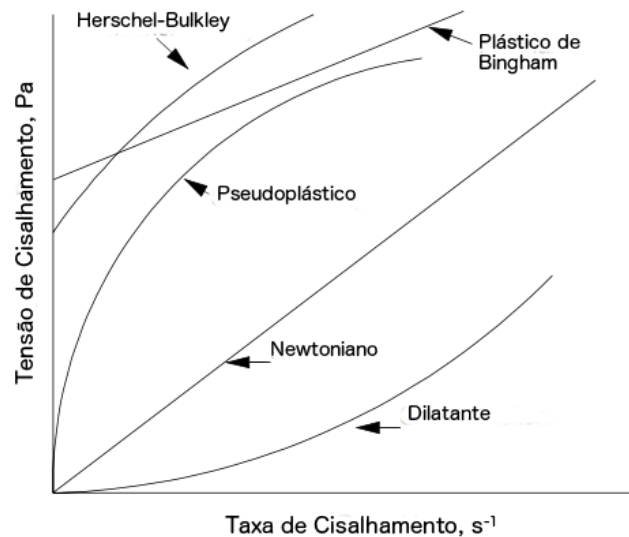


FIGURA 1.7 – COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE FLUIDOS INDEPENDENTES DO TEMPO.
FONTE: STEFFE (1996)

Os fluidos pseudoplásticos, quando representados graficamente, apresentam uma curvatura com concavidade voltada para baixo, isto é, um aumento na taxa de cisalhamento produz um aumento maior que o proporcional na tensão de cisalhamento (Figura 1.7). Estes fluidos apresentam uma diminuição da viscosidade à medida que aumenta a taxa de cisalhamento. Muitos alimentos apresentam comportamento pseudoplástico, como diversas emulsões, sucos de frutos, entre outros (McCLEMENTS, 1999; RAO, 2007).

Os fluidos dilatantes apresentam, em um gráfico de tensão *versus* taxa de cisalhamento, curvatura com concavidade voltada para cima, isto é, um aumento na tensão de cisalhamento produz um aumento menor que o proporcional na taxa de cisalhamento (Figura 1.7). Eles apresentam um aumento na viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. Este comportamento é menos comum que o pseudoplástico. Entre eles estão algumas emulsões concentradas e dispersões com partículas que não apresentem tendência à associação (McCLEMENTS, 1999; RAO, 2007; SCHRAMM, 2005).

Os plásticos de Bingham e Herschel-Bulkley apresentam comportamento de sólido até determinada tensão. Após esta tensão, o plástico de Bingham apresenta comportamento similar a um fluido Newtoniano, e o Herschel-Bulkley apresenta comportamento similar a um fluido pseudoplástico. Um exemplo do comportamento de plástico de Bingham é encontrado em pasta de dentes (SHARMA; MULVANEY; RIZVI, 2000).

Alguns fluidos iniciam o fluxo apenas após um determinado valor de tensão de cisalhamento, ou seja, uma tensão inicial. Isto ocorre em vários tipos de emulsões e é um fator muito importante para o dimensionamento de equipamentos (RAO, 2007; STEFFE, 1996).

b) Comportamento Viscoelástico

Fluidos viscoelásticos são aqueles que possuem tanto caráter viscoso (líquidos ideais) como caráter elástico (sólidos ideais), isto acontece em fluidos reais (BRUMER, 2006).

Em um experimento dinâmico ou periódico, uma tensão ou deformação oscilatória senoidal, a uma frequência angular (ω), é aplicada no material, e a diferença de fase entre a tensão aplicada e a deformação observada, bem como a taxa de amplitude, são medidas (MA; BARBOSA-CANOVAS, 1993).

O módulo de armazenamento ou módulo elástico (G') indica que a energia do cisalhamento aplicado é temporariamente armazenada durante o teste. O módulo de perda (G'') é a energia utilizada pela amostra durante o cisalhamento e é perdida depois

irreversivelmente, representa o comportamento viscoso ou líquido da amostra. O módulo complexo ($|G^*|$) representa a resistência total de um material contra um cisalhamento aplicado (Equação 1.2), ele é composto por G' e G'' (Equação 1.3). Tanto o módulo complexo como o ângulo de fase (δ) são dependentes da frequência (BOUCHAMA *et al.*, 2003; HELDMAN; LUND, 1992; SCHRAMM, 2000).

$$|G^*| = \frac{\tau^0}{\gamma^0} \quad (1.2)$$

onde,

τ^0 = tensão total do sistema;

γ^0 = deformação total do sistema.

$$|G^*| = G' + iG'' \quad (1.3)$$

Os módulos de armazenamento e perda são dados pelas Equações 1.4 e 1.5, respectivamente .

$$G' = |G^*| \cos(\delta) \quad (1.4)$$

$$G'' = |G^*| \sin(\delta) \quad (1.5)$$

No caso de um sólido perfeitamente elástico, toda energia é estocada, G'' é igual a zero, e a tensão e a deformação estarão em fase. Caso contrário, para um líquido perfeitamente viscoso, toda energia é dissipada, G' é igual a zero, e a tensão e a deformação estarão fora de fase (Figura 1.8) (HELDMAN; LUND, 1992).

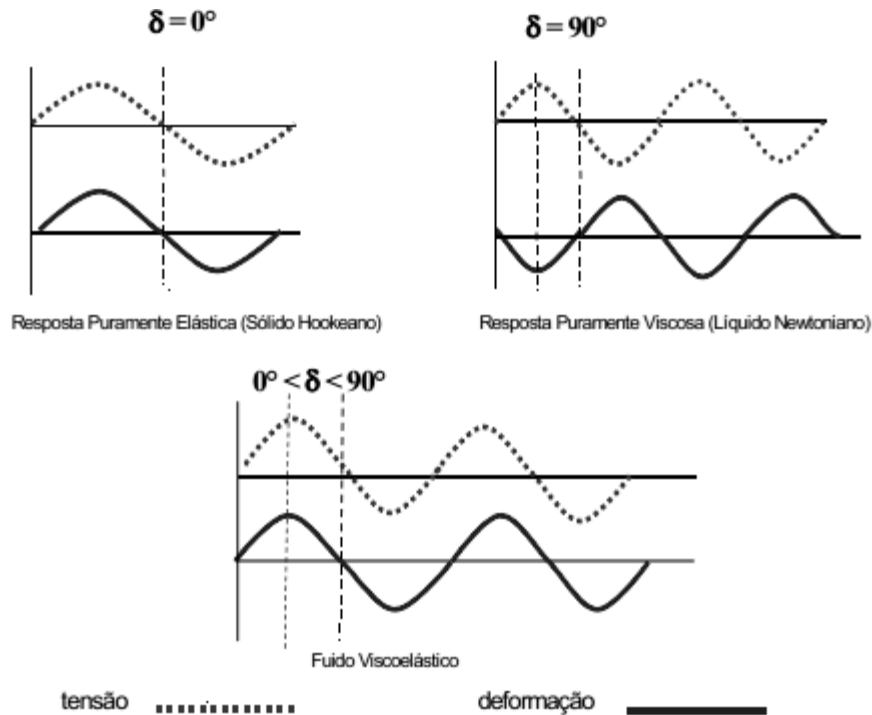


FIGURA 1.8 – TESTE VISCOELÁSTICO DINÂMICO MECÂNICO, RESPOSTA DOS EXTREMOS CLÁSSICOS E DO MATERIAL.

FONTE: Adaptado de HELDMAN e LUND (1992)

O estudo do comportamento viscoelástico dos diferentes sistemas é baseado na dependência de G' e G'' em função da frequência. Parâmetros como $|G^*|$, η^* (viscosidade complexa) e $\tan \delta$ também são importantes características do sistema. A varredura de frequência é o modo mais comum de teste oscilatório porque mostra como o comportamento elástico e viscoso de um material varia com as taxas de aplicação de deformação e tensões. Nesse teste, a frequência da deformação é aumentada passo a passo enquanto que a amplitude do sinal de entrada (deformação ou tensão) é mantida constante. Varreduras de frequência são muito úteis na comparação, de “impressões digitais” de diferentes produtos alimentícios ou na comparação do efeito de vários ingredientes e processos de tratamento na viscoelasticidade (STEFFE, 1996).

As redes estruturais de grande parte das emulsões são resultantes de forças intermoleculares interativas. Quando uma emulsão estável é tensionada em um intervalo de viscoelasticidade linear, G' é, entre 10 e 1000 vezes, maior que G'' . Nestas emulsões o módulo de armazenamento e o módulo de perda são praticamente paralelos durante toda a faixa de frequência, essas emulsões tem comportamento de gel. Emulsões um pouco menos estáveis, com forças interativas intermoleculares moderadas apresentam comportamento de soluções concentradas. Em emulsões menos estáveis, com forças interativas intermoleculares

fracas, G' e G'' chegam a se cruzar, fenômeno de “*crossover*” (comportamento de solução concentrada) (BRUMMER, 2006).

c) Comportamento Reológico de Emulsões Alimentícias

De um ponto de vista tecnológico, o comportamento reológico de emulsões alimentícias é fundamental devido principalmente a sua relação com a estabilidade destas emulsões. Assim, um grande número de parâmetros que influenciam a estabilidade da emulsão também afetam a reologia (GALLEGOS; FRANCO; PARTAL, 2004).

Alguns fatores que influenciam o comportamento reológico das emulsões são a fração do volume da fase dispersa, o comportamento reológico dos componentes das fases, o tamanho de gota, as interações coloidais e as cargas das partículas (McCLEMENTS, 1999). Todos estes fatores são influenciados pelas condições de processamento da emulsão, como a entrada de energia durante emulsificação, tempo de residência, a aplicação de tratamentos térmicos, a eficiência de mistura, entre outros (GALLEGOS; FRANCO; PARTAL, 2004).

A viscosidade das emulsões aumenta com o aumento da fração do volume da fase dispersa. Após atingir a fração do volume crítico da fase dispersa, as gotas estão muito próximas uma das outras e a emulsão comporta-se como gel. A viscosidade das emulsões também é diretamente proporcional à viscosidade da fase contínua. A influência do tamanho de gota e da distribuição do tamanho de gotas no comportamento reológico das emulsões é dependente de fatores como a fração do volume da fase dispersa e da natureza das interações coloidais. O tamanho de gota também influencia no grau de floculação das gotas da emulsão, o qual por sua vez irá influenciar na reologia da emulsão. As propriedades reológicas de uma emulsão são muito influenciadas pelas interações coloidais, dependem da magnitude relativa da atração (principalmente interações de Van der Waals, e hidrofóbico) ou de repulsão (principalmente interações eletrostáticas, estéricas) entre as gotículas. As cargas das partículas também irão influenciar no comportamento reológico, facilitando a agregação ou desagregação e na distância das gotas, o que influenciará, portanto, na viscosidade (McCLEMENTS, 1999).

Apesar de uma ampla literatura relacionadas a emulsões de óleo de soja, e outros, existe uma literatura restrita sobre o comportamento reológico de emulsões contendo óleo de abacate. Logaraj et al. (2008) estudou o comportamento reológico estático de emulsões formadas com óleo de polpa de abacate, utilizando como tensoativos proteína concentrada de

trigo. As emulsões formadas apresentaram comportamento de fluido pseudoplástico, e as curvas de fluxo foram ajustadas pelo modelo de Ostwald-de Waele.

1.3.2.4 Propriedades Interfaciais

A interface de uma emulsão é a parte que separa a fase aquosa da fase oleosa. Esta fração afeta diretamente a formação, estabilidade, reologia, além de características sensoriais da emulsão. A interface também é importante, pois as gotas emulsionadas possuem uma grande área interfacial, e mesmo com uma pequena energia interfacial por unidade de área, esta se torna grande quando considerado o volume total da emulsão. Algumas propriedades interfaciais das emulsões que serão apresentadas a seguir são: tensão superficial, tensão interfacial e reologia interfacial (McCLEMENTS, 1999; SCHRAMM, 1992).

a) Tensão Superficial e Tensão Interfacial

A tensão superficial pode ser definida como a força na superfície de um líquido que tem o comportamento de uma membrana elástica. A tensão é resultante das forças de atração entre as moléculas do líquido. A tensão superficial da água é alta ($72 \cdot 10^{-3}$ N/m a 25 °C), devido às ligações de hidrogênio entre as moléculas (MERRYWEATHER et al., 2005).

A tensão interfacial corresponde às forças intermoleculares na interface entre dois líquidos imiscíveis. A tensão interfacial e a superficial são medidas em Newton por metro (N/m), pois correspondem à soma das forças de contração agindo paralelas à interface por unidade de área, ou ainda, correspondem à energia livre requerida para criação ou expansão de uma área superficial (MERRYWEATHER et al., 2005; SCHRAMM, 1992; SCHRAMM, 2000).

A presença de tensoativos na interface entre dois líquidos diminui a tensão interfacial. Isto ocorre, porque quando o tensoativo é adsorvido na interface óleo-água ele se posiciona com a fração polar para a água e a fração apolar para o óleo, assim são diminuídas as interações não favoráveis entre grupos apolares e água e aumentadas as interações favoráveis entre grupos polares e água. Ou seja, ele fornece uma força agindo contra a tensão interfacial normal da interface (McCLEMENTS, 1999; SCHRAMM, 1992).

b) Reologia Interfacial

Reologia interfacial é o estudo das propriedades mecânicas e de fluxo nas camadas adsorvidas na interface dos fluidos. Este estudo é importante em trabalhos físico-químicos de sistemas alimentícios, devido às propriedades estruturais e mecânicas das camadas adsorvidas, as quais tem uma influência crucial na formação, estabilidade e textura das emulsões (McCLEMENTS, 1999; MURRAY; DICKINSON, 1996).

Quando uma emulsão é submetida à agitação mecânica, a superfície da gota sofre vários diferentes tipos de deformação como resultado da tensão que está atuando. Tensões podem causar uma movimentação de regiões da interface, porém sem alterar sua área, a qual é conhecida como deformação de cisalhamento interfacial. Por outro lado, estas tensões podem acarretar numa expansão ou contração da área superficial, esta por sua vez é conhecida como deformação interfacial dilatacional. Uma interface pode ter característica de sólido, a qual é descrita por uma constante interfacial elástica, ou característica de fluido, a qual é descrita por uma viscosidade interfacial. Na prática, a maioria das interfaces tem características parte de sólido e de líquidos e portanto exibem comportamento viscoelástico (McCLEMENTS, 1999).

A estabilidade das gotas de emulsões à coalescência é amplamente governada pela resistência da interface óleo-água à deformação e ruptura. Emulsificantes que formam membranas altamente viscoelásticas, as quais são resistentes à ruptura, frequentemente promovem estabilidade contra a coalescência. Desta maneira é importante ter técnicas analíticas que possam ser usadas para caracterizar a reologia interfacial de diferentes emulsificantes e estabelecer os fatores que influenciam nas suas propriedades interfaciais (McCLEMENTS, 1999).

O método da gota pendente pode ser utilizado para determinação das características reológicas interfaciais dilatacionais de uma interface. Dois tipos principais de técnicas da gota pendente são caracterizados por duas maneiras diferentes de monitoramento da tensão interfacial: uma técnica baseia-se na análise do perfil da gota e a outra está relacionada à pressão capilar (RAVERA; LOGLIO; KOVALCHUK, 2010).

A tensiometria de análise de perfil da gota (DPT – *drop profile tensiometry*) é uma técnica bem estabelecida para determinação das propriedades mecânicas de interface líquido-gás e líquido-líquido. Uma gota de um líquido dentro de outro fluido assume uma forma que minimiza a energia total do sistema. Tal forma é determinada por uma combinação da tensão superficial e efeitos da gravidade: as forças de superfície tendem a formar gotas esféricas enquanto que a gravidade tende a alongá-las verticalmente, ou achatá-las. Em cada ponto da

superfície de uma gota, sob condição de equilíbrio mecânico, a relação entre a diferença de pressão através da interface, a tensão interfacial e a curvatura da interface é fornecida pela equação de Laplace (RAVERA; LOGLIO; KOVALCHUK, 2010).

Uma análise típica de DPT é constituída por uma célula em que uma gota é formada no interior do outro fluido, na ponta de um capilar vertical ou em forma de U (Figura 1.9). A gota é continuamente monitorada por uma câmera de vídeo acoplada a um computador, e o seu perfil é obtido de modo automático, a fim de calcular a tensão interfacial (RAVERA; LOGLIO; KOVALCHUK, 2010).

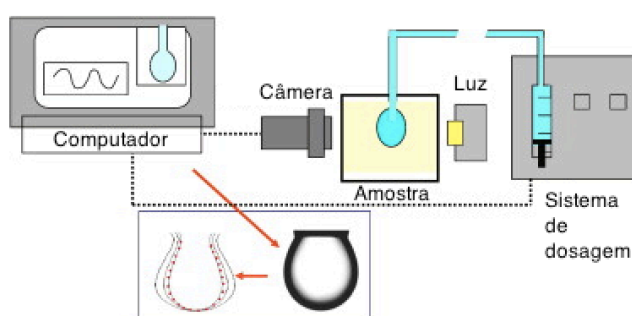


FIGURA 1.9 – ESQUEMA DE UM TÍPICO SISTEMA DE TENSIOLOGIA DE ANÁLISE DE PERFIL DA GOTA.

FONTE: RAVERA; LOGLIO; KOVALCHUK (2010)

1.4 ESTADO DA ARTE

Vários estudos têm sido realizados nas últimas décadas sobre as propriedades do abacate de diversas variedades, extração e caracterização do seu óleo, no entanto existem poucos relatos sobre os seus fosfolipídeos.

Bizimana, Breene e Csallany (1993), Gutierrez (1976), Meyer e Terry (2008) e Ortiz-Moreno et al. (2003), Turatti et al. (1985), entre outros estudaram diferentes metodologias para extração do óleo da polpa de abacate e sua caracterização. Porém, mesmo com diversos estudos sendo realizados com o óleo, a variedade de abacate Margarida é muito pouco estudada, no entanto é uma variedade muito consumida no Brasil. Grande parte dos trabalhos apresentam apenas estudos com a variedade Hass, a qual apresenta grande consumo em países como México e Chile. Não há trabalhos na literatura que apresentem análises termogravimétricas e antibacterianas com o óleo de abacate da variedade Margarida.

Logaraj et al. (2008), realizaram a extração do óleo da polpa do abacate e produziu uma emulsão O/A, porém utilizando concentrado proteico de soro do leite como tensoativo.

Neste trabalho, as emulsões preparadas foram caracterizadas por análises de reologia estacionária e microscopia óptica de contraste de fase.

Estudo feito por Pacetti et al. (2007) desenvolveu um método de quantificação simultânea para fosfolipídeos e glicolipídeos presentes no abacate por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas. Takenaga et al., utilizou a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência para quantificação dos fosfolipídeos nas variedades de abacate Hass, Fuerte e Bacon.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que estudem a extração, caracterização e a utilização dos fosfolipídeos do abacate, tendo assim os Capítulos 4 e 5 do presente trabalho caráter inédito.

Desta maneira, muitos estudos ainda podem ser realizados, com diferentes variedades de abacate, como a Margarida, tanto em relação ao óleo, como em relação à caracterização e utilização dos fosfolipídeos desta e de outras variedades de abacate.

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE ABACATE

RESUMO

O abacate, *Persea americana* Mill., é conhecido por ser um fruto rico em óleo. Ele é consumido tanto em pratos salgados, como em sobremesas doces. Vários estudos apresentam benefícios relacionados ao consumo do abacate, como presença de compostos fitoquímicos, fonte de vitamina E, prevenção de alguns tipos de câncer, entre outros. Visando ampliar as aplicações deste fruto, o presente teve como objetivo caracterizar as polpas de abacate das variedades Margarida, Fortuna e Hass, quanto à composição centesimal, comportamento reológico e aspecto microscópico. As polpas de abacate foram separadas da casca e da semente e determinado seu teor de umidade, lipídeos, proteínas e cinzas. Foi realizada a análise microscópica óptica das polpas puras e com adição de 50 % (v/v) de água, após homogeneização a 9.000 rpm por 3 minutos, e analisado o seu comportamento reológico em estado estacionário e oscilatório. O teor de umidade nas polpas variou de 67,19 a 79,12 % (m/m), base úmida, nas variedades Hass e Margarida respectivamente, para lipídeos foi de 13,88 a 22,39 % (m/m), base úmida, para as variedades Fortuna e Hass, para proteínas de 0,97 a 2,36 % (m/m) para Fortuna e Hass e para cinzas de 0,77 a 1,38 % (m/m) para as variedades Margarida e Hass. A partir das microscopias das polpas, observou-se que as polpas apresentaram-se na forma de emulsões, contendo gotas de óleo dispersas na fase aquosa da polpa. Todas as polpas apresentaram comportamento reológico característico de fluidos pseudoplástico, com melhor ajuste pelo o modelo de Herschel-Bulkley, com R^2 acima de 0,949 em todos os casos. A polpa da variedade Hass teve a maior viscosidade aparente, seguidas pela polpa da variedade Margarida e pela variedade Fortuna, sendo que as polpas com água tiveram viscosidade aparente inferiores que as polpas puras. Em relação ao comportamento viscoelástico, as polpas apresentaram módulo elástico (G') superior ao módulo viscoso (G''), em toda a faixa de frequência analisada, caracterizando uma emulsão com comportamento de gel.

2.1 INTRODUÇÃO

O consumo do abacate varia em diferentes regiões. Desde o consumo da polpa pura, como ingrediente em pratos salgados, como o Guacamole, ou em sobremesas doces. Além disso, ele é utilizado como ingrediente no preparo de outros produtos doces e salgados, como, por exemplo, sorvete, sopas ou misturado em saladas (GONZÁLEZ-FERNANDES, et al., 2015; WHILEY; SCHAFFER; WOLSTENHOLME, 2002).

No processamento da polpa do abacate, além da sua composição, outra característica importante é o seu comportamento reológico, ou seja o estudo da deformação e do escoamento da matéria (RAO, 2007). A avaliação do comportamento reológico da polpa de abacate é importante no dimensionamento de equipamentos, definição, padronização e otimização de parâmetros de processo e relação com as características sensoriais (TABILO-MUNIZAGA et al., 2005).

Desta forma, neste capítulo é apresentado o estudo realizado com a polpa dos abacates das variedades Margarida, Fortuna e Hass. O objetivo foi determinar a composição (lipídeos, proteínas, cinzas e umidade), e avaliar o perfil microscópico e o comportamento reológico estático e oscilatório, destas três variedades.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 MATERIAIS

Para a realização deste trabalho (Capítulo 2), abacates das variedades Margarida, Fortuna e Hass (Figura 2.1) foram adquiridos no CEASA (Central de Distribuição de Alimentos), Curitiba, em setembro de 2012. As polpas foram separadas, trituradas, congeladas, liofilizadas e armazenadas à -20 °C até sua utilização. Foram utilizadas frutas maduras sem a presença de injúrias.

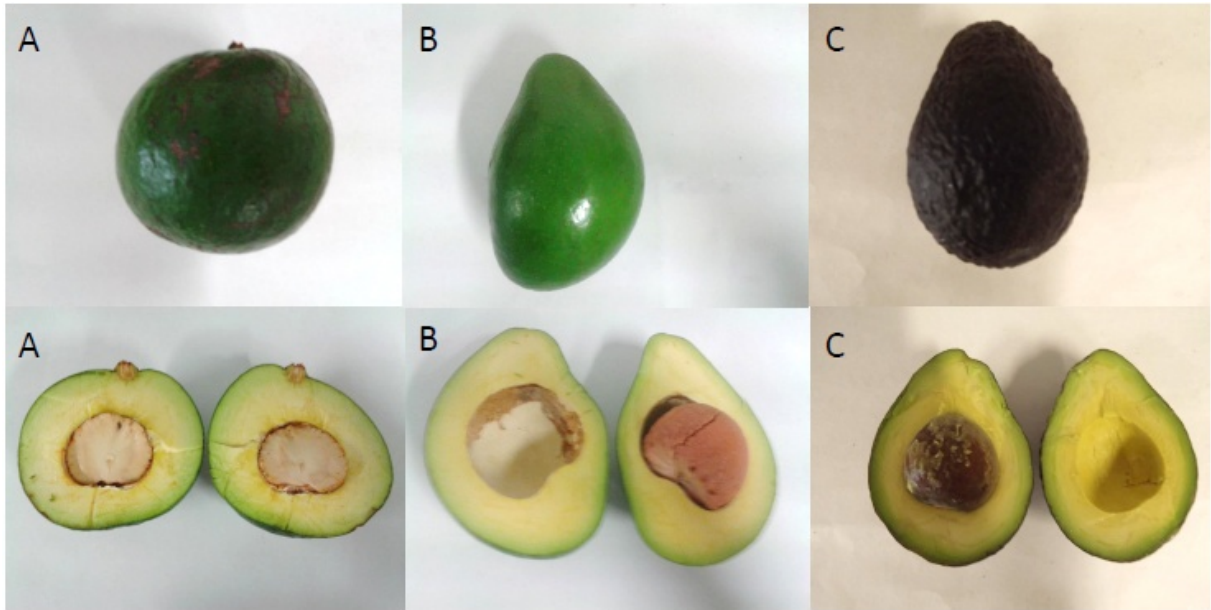


FIGURA 2.1 – ABACATE DAS VARIEDADES: (A) MARGARIDA; (B) FORTUNA; (C) HASS.

Foram adquiridos 22 kg de abacates das variedades Margarida e Fortuna e 10 kg da variedade Hass. Esses frutos foram armazenados a temperatura ambiente até início do amolecimento da polpa, verificado pela ação mecânica de prensagem manual dos frutos. Para os frutos, exceto frutos com injúrias, foi realizada a separação da polpa, casca e semente (caroço) e medidas as massas. As polpas de cada variedade separadamente foram homogeneizadas em liquidificador, e congeladas. Para as análises de teor de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas, as polpas foram liofilizadas ($-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $100\text{ }\mu\text{mHg}$, 100 h) em liofilizador Liobras L101 (Liobras, Brasil), embaladas a vácuo e novamente congeladas até utilização. Para as análises de microscopia e comportamento reológico, as polpas congeladas foram descongeladas e homogeneizadas, conforme descrito nas Seções 2.2.2.5 e 2.2.2.6.

2.2.2 CARACTERIZAÇÃO DO ABACATE

As polpas de abacate foram analisadas em relação ao teor de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, comportamento reológico e aspecto microscópico.

2.2.2.1 Teor de Umidade

A determinação do teor de umidade foi feita de acordo com IAL (2004), em estufa de secagem sem circulação de ar, a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, até massa constante. As análises foram realizadas em triplicata.

2.2.2.2 *Lipídeos totais*

O teor de lipídeos totais foi determinado utilizando Soxhlet, conforme metodologia definida em IAL (2004). Foi utilizado éter de petróleo como solvente. As análises foram realizadas em triplicata.

2.2.2.3 *Proteínas totais*

A determinação de proteínas totais foi realizada pelo método de Kjeldahl clássico, conforme IAL (2004). As análises foram realizadas em triplicata.

2.2.2.4 *Cinzas*

Para determinação de cinzas foram pesados 5 g de amostra, e colocadas em cadinhos previamente incinerados e pesados. Os cadinhos com as amostras foram colocados na mufla a 550°C por 6 horas. Após este período as amostras foram colocadas para resfriar em dessecador, em seguida pesadas e calculado a concentração de cinzas. As análises foram realizadas em triplicata.

2.2.2.5 *Análise por microscopia óptica*

Polpas de abacate pura e com adição de 50 % (v/v) de água destilada foram homogeneizadas em Homogeneizador Silverson L4RT (Silverson Machines Ltd, UK), à 9000 rpm por 3 minutos, para realização das microscopias. A análise microscópica foi realizada utilizando um microscópio invertido Zeiss Observer D1 (Zeiss Vision GmbH, Germany), com captura de imagem, e o software AxioVision, versão 4.8.1. Todas as análises foram realizadas com aproximação de 1600 X. Esta análise foi realizada com o objetivo de visualizar a distribuição de gotas de óleo, após a homogeneização da polpa pura, e com adição de água. A adição de água é realizada em algumas amostras obtidas por metodologias de extração de óleo como por centrifugação ou extração enzimática.

2.2.2.6 Comportamento reológico da polpa de abacate

As polpas das três variedades de abacates foram homogeneizadas a 9000 rpm por 3 minutos em homogeneizador Silverson L4RT (Silverson Machines Ltd, UK), em duas condições: a primeira pura, e a segunda com 50 % (v/v) de água destilada.

O comportamento reológico das amostras de abacate em estudo foi realizado utilizando um reômetro Mars II (Thermo Electron GmbH, Germany), cone-placa, com placa de 60 mm, e ângulo de 2°. Para a obtenção das curvas de fluxo a taxa de cisalhamento foi variada entre 0,01 e 100 s⁻¹, com aquisição de 100 pontos, em triplicata. Para as análises dos espectros mecânicos (módulos G' e G'' em função da frequência) foi realizada uma varredura de tensão na faixa de 0,1 a 100 Pa a frequência de 1 Hz com o objetivo de determinar a região viscoelástica. A tensão utilizada na varredura de frequência foi o início da região viscoelástica linear. Em seguida, foram realizados os ensaios de varredura de frequência em deformação oscilatória, na faixa de 0,1 a 10 Hz, à 25 °C.

Os modelos de Ostwald-de Waele (Eq. 2.1) e Herschel-Bulkley (Eq. 2.2) foram ajustados aos dados.

$$\tau = k_{lp}(\dot{\gamma})^n \quad (2.1)$$

$$\tau = \tau_o + k_{hb}(\dot{\gamma})^n \quad (2.2)$$

Onde: τ é a tensão de cisalhamento, τ_o é a tensão inicial, k é o índice de comportamento, $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento e n é o índice de comportamento.

2.2.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados pela análise de variância com $p \leq 0.05$. As diferenças significativas entre as médias foram analisadas pelo teste de Tukey no mesmo nível de significância. O software Statistica 10.0 foi utilizado para as análises.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a aquisição, os abacates foram divididos em polpa, casca e caroço. Para cada uma das partes foi medida a massa e em seguida estas partes foram armazenadas à -20 °C. A Tabela 2.1 apresenta a porcentagem de polpa, casca e caroço, para cada uma das variedades, da safra de 2012.

TABELA 2.1 – ANÁLISE COMPARATIVA DA ANATOMIA DE FRUTOS DE ABACATE DAS VARIEDADES MARGARIDA, FORTUNA E HASS, DA SAFRA DE 2012.

	% (m/m) Polpa	% (m/m) Casca	% (m/m) Caroço
Margarida	75,5±3,7 ^a	7,2±2,5 ^a	17,3±2,9 ^b
Fortuna	75,2±1,9 ^a	11,1±2,0 ^a	13,7±4,0 ^b
Hass	64,0±2,5 ^b	13,1±1,6 ^a	22,9±1,0 ^a

Nota: Letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Entre as variedades, a Hass foi a que apresentou menor percentual de polpa. As variedades Margarida e Fortuna apresentaram a mesma proporção de polpa estatisticamente. As três variedades não apresentaram diferença significativa na proporção de casca. Para o caroço, a variedade Hass, apresenta uma proporção superior às outras duas variedades.

O estudo realizado por Tango, Carvalho e Soares (2004) apresentou teores de polpa da ordem 75,7 % e 67,5 % para as espécies Fortuna e Hass, respectivamente; enquanto que Jorge (2014) avaliou os teores de polpas das espécies Margarida e Hass, e encontrou valores iguais a 72,19 % e 64,72 %, respectivamente. Ambos os estudos apresentam valores similares aos obtidos no presente trabalho (Tabela 2.1).

2.3.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

As polpas dos abacates Margarida, Fortuna e Hass foram analisadas em relação ao teor de umidade, lipídeos, proteínas e cinzas. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 2.2.

TABELA 2.2 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA POLPA DOS ABACATES DAS VARIEDADES MARGARIDA, FORTUNA E HASS, SAFRA 2012.

	Umidade	Lipídeos	Proteínas	Cinzas
Polpa				
Margarida	79,12±0,09 ^a	14,05±0,42 ^b	1,19±0,02 ^b	0,77±0,04 ^b
Fortuna	76,94±0,42 ^b	13,88±1,36 ^b	0,97±0,18 ^b	0,87±0,04 ^b
Hass	67,19±0,22 ^c	22,39±0,04 ^a	2,36±0,34 ^a	1,38±0,04 ^a

Nota: Letras iguais em uma mesma coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As polpas de abacate apresentaram um comportamento diferente em relação às suas composições. A variedade Hass tem menor umidade que as demais variedades avaliadas, e maior quantidade de lipídeos, proteínas e minerais. Estes frutos apresentam alta concentração lipídica, quando comparado a outros frutos (ENCYCLOPEDIA, 2002).

A concentração de lipídeos encontrada neste trabalho, para a variedade Hass, é superior ao apresentado por Takenaga et al. (2008), que foi de 18,2 %, e inferior ao encontrado por Tango, Carvalho e Soares (2004), que foi de 31,1 %, ou seja, o valor

encontrado neste estudo está entre os valores encontrados na literatura. A variedade Fortuna apresentou no estudo feito por Tango, Carvalho e Soares (2004) teor de lipídeos de 5,9 %, inferior ao encontrado no presente trabalho (13,88 %). A concentração de lipídeos varia de acordo com diversos fatores, incluindo as diferentes cultivares de abacate, diferenças geográficas, condições climáticas, tempo de colheita, estágio de maturação, entre outros (GÓMEZ-LÓPEZ, 2002; OZDEMIR; TOPUZ, 2004).

A concentração de proteínas (1,19 e 2,36 %) e de cinzas (0,77 e 1,38 %) foi baixa, e está próxima ao encontrado por Jorge (2014) (1,22 e 1,73 % de proteínas e 0,67 e 1,08 % de cinzas, para as variedades Margarida e Hass, respectivamente).

2.3.2 ASPECTO MICROSCÓPICO

A Figura 2.2 apresenta as microscopias das polpas de Margarida, Fortuna e Hass, respectivamente. Esta análise foi realizada para verificar a distribuição do óleo na polpa após o processo de homogeneização.

Para as três variedades é possível perceber que tanto a polpa pura como a polpa com adição de água possui gotas de óleo dispersas, isto ocorre, pois, após homogeneização as células em que a gordura está contida na polpa do abacate, chamadas células de óleo idioblásticas, são rompidas (ORTIZ-MORENO et al., 2004). Devido à agitação ocorre a formação de uma emulsão onde o óleo é a fase dispersa e solução aquosa a fase contínua. A emulsão em que há a adição de 50 % (v/v) de água, apresenta menor quantidade de óleo e, portanto, menor quantidade de gotas será encontrada.

As emulsões de polpa de abacate, “in natura” e com 50 % de água, possuem a maioria das gotas com diâmetro inferior a 10 μm . Após o processamento da polpa não foi observada separação de gotas de óleos, ou outros constituintes, nas horas subsequentes ao preparo. Esta estabilidade das emulsões de polpas de abacate se dá pelos diversos constituintes que interagem com as fases como é o caso dos fosfolipídeos que estão presentes.

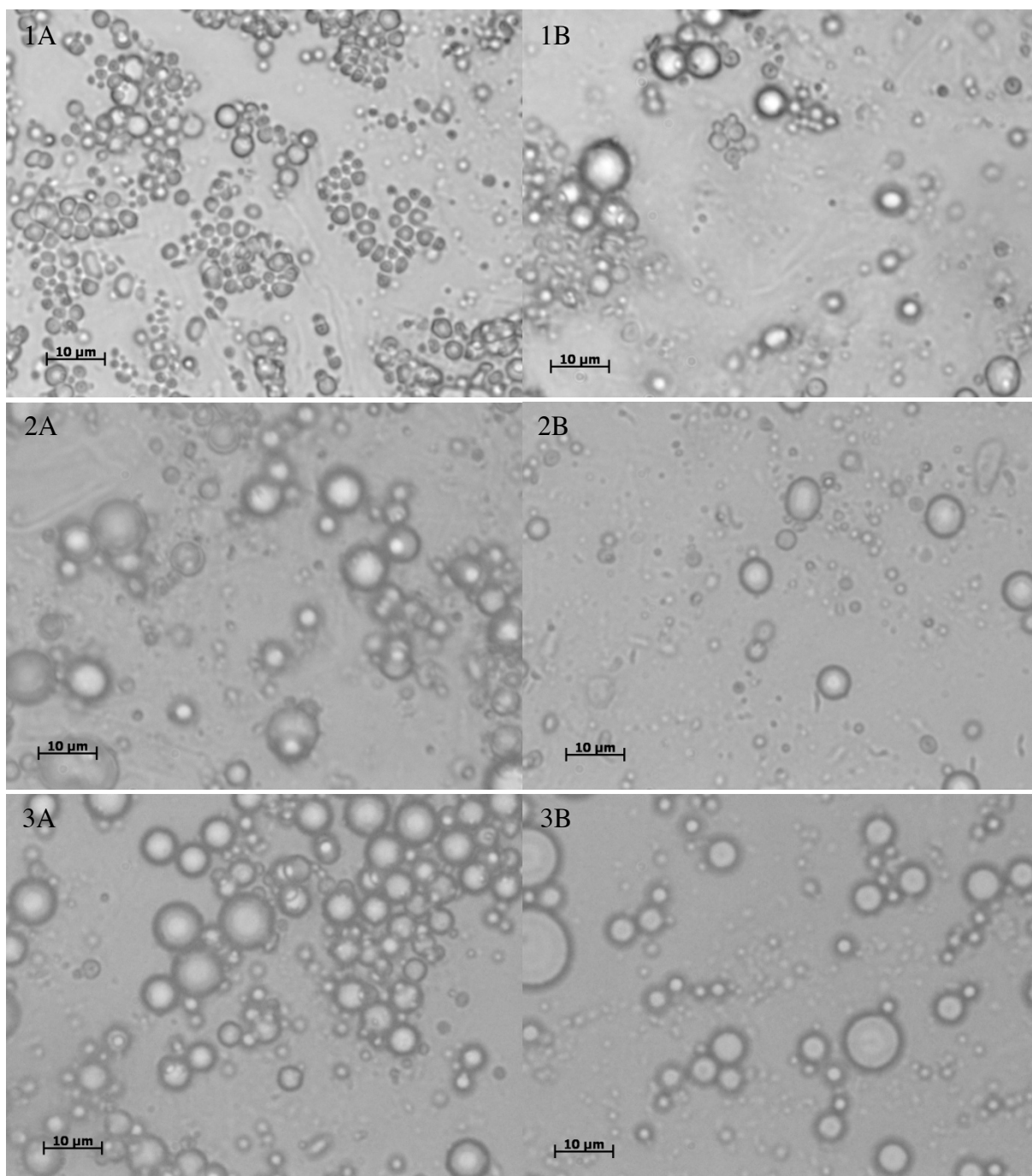


FIGURA 2.2 – MICROGRAFIA DAS POLPAS DE ABACATE (1) MARGARIDA, (2) FORTUNA, E (3) HASS APÓS HOMOGENEIZAÇÃO A 9000 RPM POR 3 MINUTOS: (A) POLPA PURA; (B) POLPA COM ADIÇÃO DE 50 % (v/v) DE ÁGUA DESTILADA. APROXIMAÇÃO DE 1600 X.

2.3.3 COMPORTAMENTO REOLÓGICO

As equações de Ostwald-de Waele e Herschel-Bulkley foram ajustados aos dados obtidos para curva de fluxo, porém a equação de Herschel-Bulkley não teve ajuste adequado aos dados. Os valores dos parâmetros n (índice de comportamento) e k (índice de

consistência) e os ajustes R^2 e SQR (Soma dos quadrados dos resíduos), para a equação de Ostwald-de Waele, são apresentados na Tabela 2.3.

TABELA 2.3 – AJUSTES DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DA POLPA DO ABACATE PURA E COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, À EQUAÇÃO DE OSTWALD-DE WAELE.

<i>Polpa Pura</i>	k	n	R²	SQR
Margarida	74,73±0,70	0,141±0,003	0,969	28,327
Fortuna	45,74±0,32	0,150±0,002	0,983	5,931
Hass	127,29±2,18	0,174±0,006	0,943	261,186
<i>Polpa com água</i>	k	n	R²	SQR
Margarida	29,35±0,28	0,119±0,003	0,942	4,373
Fortuna	15,03±0,16	0,181±0,003	0,976	1,264
Hass	36,82±0,31	0,154±0,003	0,977	4,972

Nota: K: índice de consistência; n: índice de comportamento; SQR: soma dos quadrados dos resíduos.

A equação de Ostwald-de Waele teve ajuste aos dados obtidos, com R^2 superior a 0,942 em todos os casos. A polpa pura da variedade Fortuna, e as polpas das três variedades, após diluição em água, apresentaram um comportamento pseudoplástico. A Figura 2.3 apresenta as curvas de fluxo das polpas de abacate pura e com adição de água, com ajuste pelo modelo de Ostwald-de Waele.

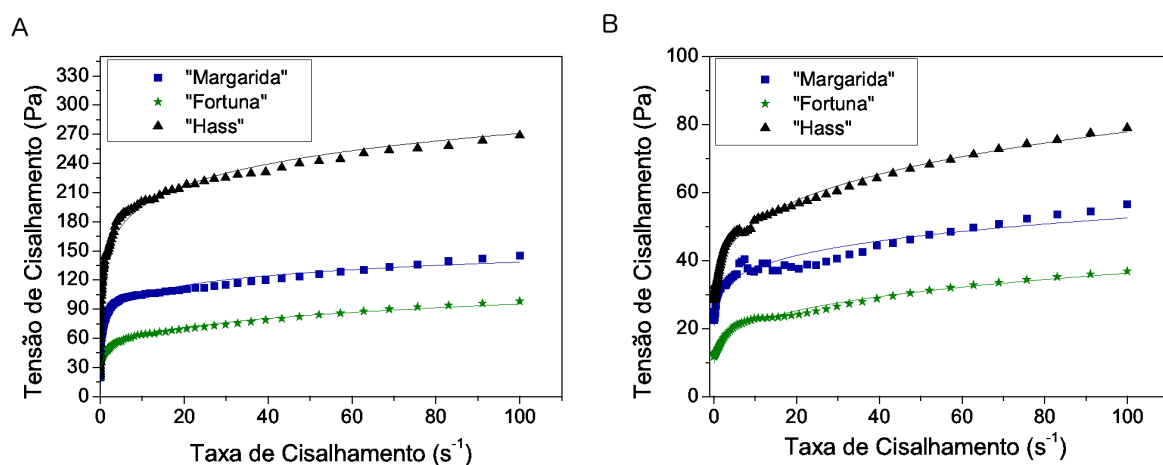


FIGURA 2.3 – CURVA DE FLUXO DA POLPA DO ABACATE (A) PURA E (B) COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, HOMOGENEIZADAS, COM AJUSTE PELA EQUAÇÃO DE OSTWALD-DE WAELE.

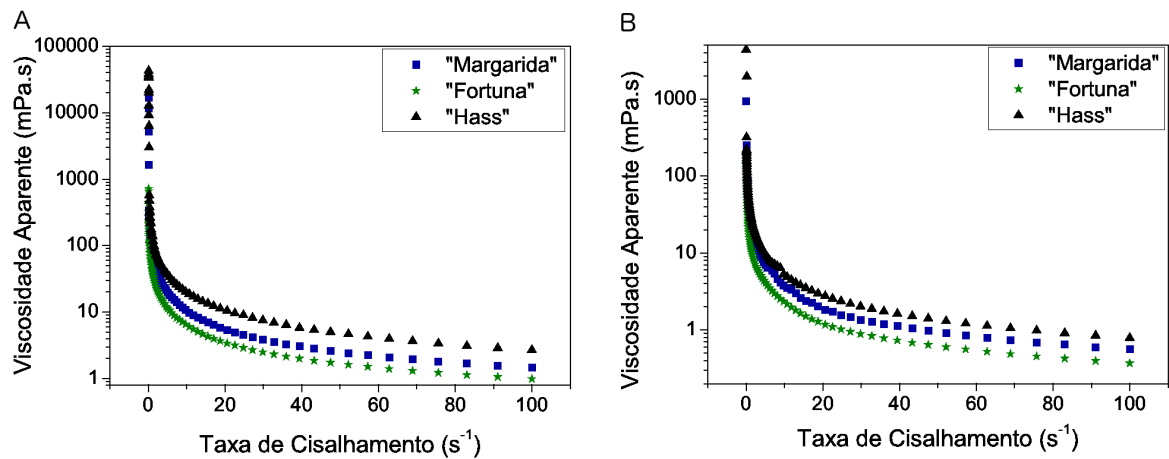


FIGURA 2.4 – CURVA DE VISCOSIDADE DA POLPA DO ABACATE (A) PURA E (B) COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, HOMOGENEIZADAS.

Com os gráficos da Figura 2.4 é possível perceber que há uma diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento aplicada à amostra. Assim como visto nas curvas de fluxo, isto condiz com o comportamento de fluidos pseudoplásticos. A seguir é apresentada (Tabela 2.4) uma comparação entre as viscosidades apresentadas pelas polpas de abacate, pura e com adição de água, nas taxas de cisalhamento de 1, 50 e 100 s^{-1} .

TABELA 2.4 – COMPARAÇÃO DAS VISCOSIDADES DA POLPA DO ABACATE PURA E COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, A TAXAS DE CISALHAMENTO DE 1, 50 e 100 s^{-1} .

Variedade	Viscosidade Aparente (mPa.s)	
	Polpa pura	Polpa com água
<i>Taxa de cisalhamento de 1 s^{-1}</i>		
Margarida	75,50±0,63 ^{Ba}	28,17±7,67 ^{Ab}
Fortuna	42,48±6,14 ^{Ca}	13,49±0,26 ^{Bb}
Hass	141,99±28,72 ^{Aa}	33,90±1,87 ^{Ab}
<i>Taxa de cisalhamento de 50 s^{-1}</i>		
Margarida	2,42±0,10 ^{Ba}	0,91±0,06 ^{Bb}
Fortuna	1,61±0,16 ^{Ca}	0,60±0,03 ^{Cb}
Hass	4,67±0,50 ^{Aa}	1,31±0,10 ^{Ab}
<i>Taxa de cisalhamento de 100 s^{-1}</i>		
Margarida	1,45±0,04 ^{Ba}	0,56±0,05 ^{Bb}
Fortuna	0,98±0,09 ^{Ca}	0,37±0,02 ^{Cb}
Hass	2,70±0,21 ^{Aa}	0,79±0,06 ^{Ab}

Nota: Letras maiúsculas iguais em uma mesma coluna, para uma mesma taxa de cisalhamento, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas iguais em uma mesma linha não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 2.4, assim como nos gráficos da Figura 2.4, pode-se observar que a polpa pura de abacate apresenta viscosidade em torno de três vezes maior do que a polpa com adição de água, quando comparada a uma mesma taxa de cisalhamento, para todas as variedades. A variedade Hass é a que apresenta a maior viscosidade para a polpa pura. As polpas com adição de água das variedades Hass e Margarida não apresentaram diferença significativa na viscosidade aparente, quando comparadas a uma taxa de cisalhamento de 1 s^{-1} .

Nas taxas de cisalhamento de 50 e 100 s^{-1} , a variedade Hass tem viscosidade aparente maior que as outras duas variedades. A variedade Hass apresentou também maior tensão de cisalhamento à uma mesma taxa (Figura 2.3), e é a variedade que apresenta menor teor de umidade (Tabela 2.2).

A viscosidade das polpas de abacate também podem estar relacionadas com a distribuição dos componentes, incluindo o óleo. Como pode ser visto nas micrografias (Figura 2.2), as polpas com adição de água são emulsões mais diluídas que as polpas sem adição, isto resultaria em produtos com viscosidades menores quando ocorre a adição de água. Entre as três variedades, a Hass foi a que apresentou maior viscosidade, concordando com o visto nas micrografias, uma vez que polpa da variedade Hass apresentou-se como uma emulsão mais concentrada que as outras polpas.

Na Figura 2.5 são apresentados os gráficos de varredura de frequência para as polpas de abacate pura e com adição de água.

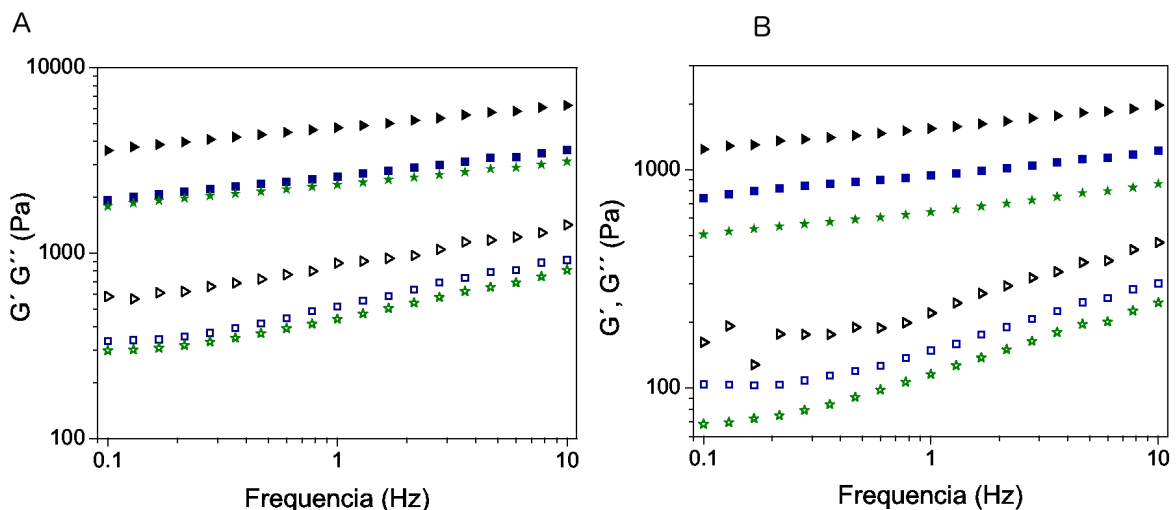


FIGURA 2.5 – VARREDURA DE FREQUÊNCIA DA POLPA DO ABACATE (A) PURA E (B) COM 50 % (v/v) DE ÁGUA, SENDO: ■ G' POLPA DA VARIEDADE MARGARIDA; □ G'' POLPA DA VARIEDADE MARGARIDA; ★ G' POLPA DA VARIEDADE FORTUNA; ☆ G'' POLPA DA VARIEDADE FORTUNA; ► G' POLPA DA VARIEDADE HASS; ▴ G'' POLPA DA VARIEDADE HASS.

Com as varreduras de frequência é possível perceber que as polpas homogeneizadas apresentam comportamento correspondente a gel fraco, e que possuem uma estrutura interna com forças intermolecular interativas fortes, pois G' é superior a G'' em toda a frequência analisada. A polpa pura de abacate apresenta-se com estrutura mais forte que a polpa de abacate com água. Além disto, a polpa de abacate Hass, nas duas condições apresenta-se como uma rede estrutural mais forte, com G' superior, à polpa da variedade Margarida, que por sua vez é superior à polpa da variedade Fortuna.

2.3.4 DETERMINAÇÃO DA VARIEDADE DE ABACATE PARA SEQUÊNCIA DO TRABALHO

A escolha da variedade de abacate foi realizada com base na quantidade de óleo e custo de aquisição dos abacates. Desta forma, a Tabela 2.5 apresenta um resumo do valor de aquisição das variedades de abacate Margarida, Fortuna e Hass, em relação ao teor de óleo apresentado.

TABELA 2.5 – VALOR DE MERCADO PARA VENDA DE ABACATES DAS VARIEDADES MARGARIDA, FORTUNA E HASS, PROPORÇÃO DE POLPA, CONCENTRAÇÃO DE ÓLEO NA POLPA E PREÇO POR LITRO DE ÓLEO.

Variedade	Preço por kg (R\$)	% Polpa	% Óleo	Preço por L de óleo (R\$)
Margarida	1,36	75,5	14,05	12,82
Fortuna	1,36	75,2	13,88	13,03
Hass	3,00	64,0	22,39	20,93

NOTA: Preços referentes ao mês de setembro de 2012, na Central de Distribuição de Alimentos de Curitiba

A variedade escolhida para a sequência dos experimentos foi a Margarida, pois apresentou o menor custo por litro de óleo. A variedade Fortuna apresentou um custo de litro de óleo próximo ao encontrado para a variedade Margarida, porém devido a oferta no mês de setembro ser maior para a variedade Margarida (constatado no CEASA, Central de Distribuição de Alimentos, de Curitiba), mês no qual foi escolhido para a compra da matéria prima, no ano de 2013, a variedade Margarida foi escolhida. A variedade Hass apresentou maior teor de óleo, porém o custo desta variedade é alto, fator que pode inviabilizar a extração deste óleo, para a indústria brasileira. O menor custo do óleo é desejável, pois nas etapas posteriores são realizadas a extração do óleo e a extração do fosfolípídeo a partir do óleo.

2.4 CONCLUSÕES

O abacate é um fruto com alta concentração lipídica, porém esta concentração varia nas diferentes variedades deste fruto. O teor de água também varia nas diferentes variedades, sendo, das variedades estudadas a Margarida que apresentou maior teor de umidade. Todas as variedades apresentaram baixo teor de proteína. As polpas das três variedades estudadas, Margarida, Fortuna e Hass, quando homogeneizadas apresentaram-se como emulsões. Em relação ao comportamento reológico, as polpas de abacate, tanto puras, como com adição de água, apresentaram comportamento pseudoplástico. As polpas da variedade Hass apresentaram maior viscosidade aparente, seguida pela polpa da variedade Margarida e por

último pela polpa da variedade Fortuna, quando comparadas a uma mesma taxa de cisalhamento. Em relação ao comportamento viscoelástico, todas as polpas apresentaram comportamento correspondente a gel, e que possuem uma estrutura interna com forças intermolecular interativas fortes, tanto as polpas puras, como as com adição de água. As polpas puras apresentaram valores de módulos elásticos e viscosos maiores que das polpas com água. Com o estudo realizado, escolheu-se a polpa da variedade Margarida para a sequencia deste trabalho, pois esta obteve menor custo por litro de óleo, nas condições de compra encontradas em setembro de 2012, no CEASA de Curitiba.

CAPÍTULO III
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE VARIEDADE
MARGARIDA

RESUMO

A fim de determinar o melhor método de extração de óleo para remoção de maior quantidade de fosfolipídeos a partir da polpa seca de abacate, neste trabalho foram realizados seis métodos de extração a frio com os solventes: acetona, clorofórmio, metanol e hexano. O método que teve maior rendimento de extração de fosfolipídeos foi com os solventes metanol:clorofórmio (2:1) e acetona, obtendo 5,7 g de fosfolipídeo para 1000 g de polpa seca, e, devido a isto, escolhida para sequência do trabalho. As frações lipídicas bruta e degomada foram analisadas quanto a: teor de ácidos graxos, umidade, densidade, comportamento reológico, propriedades térmicas e capacidade antimicrobiana. Os resultados obtidos foram comparados com um óleo de abacate comercial bruto e com óleo comercial refinado. O ácido oleico foi encontrado em concentrações maiores que 50 % em todos os óleos, além desse também foram encontrados em grandes concentrações os ácidos graxos palmítico (C16:0), entre 8,27 e 24,86%, e linoleico (C18:2), entre 13,82 e 16,90%. Os óleos apresentaram baixo teor de umidade, abaixo de 0,4 %, em todos os casos. As densidades variaram de 0,8823 g/cm³ para o óleo extraído degomado, até 0,9415 g/cm³, para o óleo extraído bruto. Os óleos comerciais apresentaram comportamento reológico Newtoniano, enquanto os extraídos em laboratório comportamento pseudoplástico. Os resultados termogravimétricos mostraram que o óleo comercial refinado possui quantidade não significativa de resíduos que degradam a baixas temperaturas. Todos os óleos apresentaram degradação térmica entre 350 e 500 °C. Os óleos brutos apresentaram inibição ao crescimento de todos os micro-organismos testados (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*) em diferentes concentrações, enquanto que para os óleos comercial refinado e extraído degomado houve crescimento destes micro-organismos, podendo o processamento retirar compostos que atuam na inibição destas bactérias. Conclui-se, portanto, que o processo de extração e a etapa do processamento do óleo influenciam nas características e na composição do óleo os quais devem ser incluídos no processamento visando a obtenção de um óleo com as características adequadas.

3.1 INTRODUÇÃO

O abacate é conhecido como um fruto com alto teor de lipídeos, quando comparado com outros frutos e vegetais, podendo alcançar até 32 % deste componente (BIZIMANA, BREENE, CSALLANY, 1993; TANGO, CARVALHO, SOARES, 2004). O óleo de abacate é rico em ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido oleico, contendo em torno de 60 % deste. Possui também um alto teor de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (aproximadamente 12 %), superior a outros óleos, como o azeite de oliva (aproximadamente 6 %) (BERASATEGI et al., 2012; PACETTI et al., 2007; TAKENAGA et al., 2008; TURATTI et al., 1985).

A fim de manter a qualidade e as características químicas e sensoriais do óleo de abacate, há uma busca constante por métodos de extração e processamento que não degradem seus constituintes. Além disso, o pré-processamento (utilização da polpa *in natura*, da polpa seca em estufa, ou da polpa liofilizada) influencia nas características finais do óleo, conforme discutido por Santos et al., 2014.

O óleo de abacate é amplamente estudado, incluindo a determinação de suas propriedades químicas e físicas, os diferentes processamentos de obtenção e suas aplicações. No entanto ainda há diversos aspectos que necessitam de estudos, incluindo a utilização de seus sub-produtos. Com base nisto, neste capítulo são apresentados seis diferentes métodos de extração com solvente orgânico, a frio, para a fração lipídica do abacate, com objetivo de posterior extração de fosfolipídeos. O extrato com maior rendimento de fosfolipídeos foi analisado em relação ao teor de umidade, ao perfil de ácidos graxos, ao comportamento reológico, às propriedades térmicas e à atividade antimicrobiana. Os resultados obtidos foram comparados com os obtidos em análises com óleo de abacate comercial bruto e refinado.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 MATERIAIS

O óleo de abacate foi extraído a partir de polpa de abacate da variedade Margarida liofilizada, a -50 °C, 100 μ mHg, por 100 h em liofilizador Liobras L101 (Liobras, Brasil). O óleo comercial bruto e o refinado foram adquiridos no comércio local (Curitiba, Paraná).

3.2.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE

Foram avaliados seis diferentes processos para a extração do óleo de abacate: extração com hexano, extração com etanol, extração tripla com etanol, extração tripla com acetona, extração com metanol:clorofórmio (2:1) e extração combinada metanol:clorofórmio (2:1) seguida de acetona. Todas as extrações foram realizadas a temperatura ambiente (22 ± 2 °C).

Em 15 g de polpa liofilizada, foi adicionado 100 mL do solvente. Logo após a adição do solvente a mistura foi macerada por um minuto, deixada em repouso por 30 minutos, novamente macerada por um minuto e deixada em repouso por 30 minutos, e finalmente macerada por mais um minuto. A mistura foi filtrada para separação da polpa e lavada com mais duas porções 20 mL de solvente. Para as extrações triplas esse procedimento foi repetido mais duas vezes. O solvente foi removido do óleo por rotaevaporação (40 °C, 80 rpm), em rotaevaporador IKA HB 10 digital (IKA GmbH, Alemanha).

Todas as extrações foram realizadas em triplicata. A eficiência das extrações foi avaliada comparando com extração em Soxhlet por 6 horas, utilizando como solvente éter de petróleo.

Os óleos obtidos pelos processos de extração propostos foram caracterizados quanto ao rendimento da extração e em relação ao teor de fosfolipídeos. O critério a partir do rendimento de fosfolipídeos em relação à polpa liofilizada foi utilizado na escolha do método de extração de óleo e posterior extração dos fosfolipídeos.

A determinação do teor de fosfolipídeos foi realizada de acordo com a metodologia oficial AOCS Ca 12-55 (2009). Esse método determina fósforo ou o conteúdo equivalente fosfolipídico através da queima da amostra em presença de óxido de zinco, seguida por medida espectrofotométrica, em comprimento de onda de 650 nm, do fósforo como um complexo ácido fosfomolibdico azul.

O óleo degomado (sem fosfolipídeos) foi obtido a partir do óleo de abacate bruto, conforme Vianna; Pires; Viana (1999) modificado. Foi adicionado 10 % de água ao óleo e aquecidos até 60 °C, em seguida, a mistura foi homogeneizada a 10.000 rpm, em homogeneizador Polytron PT 3100 D (Kinematica AG, Suíça) por três minutos para formação de uma emulsão. A emulsão formada foi centrifugada a 5.000 rpm por 3 minutos em centrífuga Excelsa II (Fanen, Brasil), para a separação das fases. Após centrifugação os fosfolipídeos ficaram misturados à fase aquosa, separados do óleo degomado.

3.2.3 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE E COMPARAÇÃO COM O ÓLEO COMERCIAL

3.2.3.1 *Teor de Umidade*

O teor de umidade foi determinado utilizando um titulador volumétrico Karl Fischer V30 (Mettler Toledo, Estados Unidos). Para solubilização do óleo de abacate em metanol seco foi utilizado clorofórmio. A análise foi realizada em triplicata.

3.2.3.2 *Densidade*

A densidade das amostras de óleo foi determinada em densímetro DMA 35N (Anton Paar, Áustria). A análise foi realizada à temperatura de 20 °C.

3.2.3.3 *Determinação do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa*

A análise de cromatografia gasosa foi realizada pelo Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, em Curitiba. A preparação de metil ésteres de ácidos graxos foi realizada conforme metodologia AOCS Ce 2-66 (1997). Os ésteres de ácidos graxos foram analisados em um Cromatógrafo a gás com detector de ionização por chama (CG) Varian® CP3900, com coluna capilar, CPsil 88 (100m comp. x 0,25mm d.i. x 0,2 µm espessura do filme), pelo método oficial AOCS Ce 1F-96 (1998). O padrão foi o Mix FAME 37 (Supelco).

3.2.3.4 *Análise Termogravimétrica*

A termogravimetria é utilizada para conhecer como alterações na temperatura influenciam na massa das amostras. Com esta análise é possível determinar a temperatura onde se inicia a decomposição, ou prever se ocorrem reações de desidratação, oxidação, entre outras. Na termogravimetria derivada (DTG) são obtidas curvas que correspondem à derivada primeira da curva TG e nos quais os degraus são substituídos por picos que delimitam áreas proporcionais às alterações de massa sofridas pela amostra (IONASHIRO, 2005). Realizando esta primeira derivada dos dados das curvas de TG, ou seja a DTG, é possível perceber mais pronunciadamente as temperaturas onde ocorre a degradação térmica dos componentes das amostras.

A análise termogravimétrica foi realizada na Central Analítica, UFPR, com o objetivo de observar o comportamento de degradação térmica dos óleos de abacate. As análises foram realizadas em um módulo termogravimétrico marca Perkin Elmer modelo TGA 4000, com 5 a 10 mg de amostra, aquecidas de 40 a 700 °C, e taxa de 10 °C/min, com atmosfera de N₂ (20 mL/min).

3.2.3.5 Comportamento reológico

O comportamento reológico dos óleos de abacate comercial e extraído em laboratório foi avaliado em viscosímetro Brookfield, modelo DV-II+Pro (Brookfield Engineering Laboratories, EUA), com o software Rheocalc versão V3.2, acoplado a um banho termostaticado Tecnal T-184 (Tecnal, Brasil) a 10 e 20 °C, utilizando geometria de cilindros concêntricos com spindle SC4-34. As temperaturas foram escolhidas devido à 20 °C ser a temperatura ambiente e 10 °C a temperatura de refrigeração. As curvas de fluxo e curvas de viscosidade foram obtidas com variação da taxa de cisalhamento entre 2 e 50 s⁻¹, e aquisição de 25 pontos em triplicata. Apenas a análise reológica não-oscilatória foi realizada devido aos óleo normalmente apresentarem comportamento Newtoniano, ou seja, serem líquidos ideais.

O coeficiente de determinação (R²) e a soma dos quadrados dos resíduos (SQR) foram utilizados para avaliar os ajustes dos modelos de Ostwald-de-Waele (Eq. 3.1) e Herschel-Bulkley (Eq. 3.2) às curvas de fluxos obtidas experimentalmente.

$$\tau = k_{lp}(\dot{\gamma})^n \quad (3.1)$$

$$\tau = \tau_0 + k_{hb}(\dot{\gamma})^n \quad (3.2)$$

Onde τ - tensão de cisalhamento (Pa); τ_{0H} - tensão inicial (Pa); k - índice de consistência (Pa.sⁿ); $\dot{\gamma}$ - taxa de cisalhamento (s⁻¹), e n - índice de comportamento (adimensional).

3.2.4.7 Atividade antimicrobiana

Foram utilizadas microplacas com 96 poços, dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Cada uma dessas placas foi destinada a análise de um microrganismo (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*), totalizando cinco placas. A coluna 1 foi destinada para o controle positivo, a coluna 2 para o branco (A até D) e controle negativo (E até H), e as colunas 3 a 10 ao ensaio dos óleos de abacate comercial bruto, comercial refinado, extraído

bruto e extraído degomado, adicionados de 10 % de Tween 80. As diluições foram realizadas em duplicata.

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada com base na metodologia descrita no documento National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (1997) e consistiu na distribuição de 160 μL de Caldo Müller-Hinton (MH) em poços de uma placa de microdiluição. As bactérias foram previamente inoculadas em meio de enriquecimento, “Brain Heart Infusion” (BHI) (infusão de cérebro-coração, hidrolisado de tecido animal, hidrolisado pancreático de caseína, cloreto de sódio, glicose, fosfato dissódico de hidrogênio e ágar), e incubados a 35 °C por 16 a 18 h. Em seguida foram diluídos em solução salina (0,85%) até atingir a concentração de 10^8 UFC.mL⁻¹ na escala MacFarland. Posteriormente foi realizada a diluição de 1:100 em caldo MH e a partir desta diluição (10^6 UFC.mL⁻¹), adicionou-se 8 μL da bactéria e por último 160 μL do respectivo extrato. Como controle positivo foi utilizado solução de cloranfenicol 30 mg.mL⁻¹ em caldo MH; e para o controle negativo, água destilada estéril. As microplacas foram incubadas a 35 °C por 24 h, em condições de aerobiose. A determinação das CIMs teve como base presença ou ausência de coloração rosa, sendo convencionado: presença de coloração rosa como crescimento bacteriano e ausência como não crescimento bacteriano.

3.2.4.8 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados pela análise de variância com $p \leq 0,05$. As diferenças significativas entre as médias foram analisadas pelo teste de Tukey no mesmo nível de significância. O software Statistica 10.0 foi utilizado para as análises.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 EXTRAÇÃO DO ÓLEO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS

Quando são realizadas diferentes tipos de extrações, utilizando diferentes solventes, ou diferentes processos, os extratos obtidos são diferentes, mesmo que seja utilizada a mesma matéria prima. Isto também acontece para extrações de frações da polpa de abacate. Diferentes solventes são capazes de remover o óleo e outros constituintes lipídicos presentes na polpa. Com base nisso, procurou-se determinar a extração que obtivesse o maior

rendimento de fosfolipídeos a partir de uma determinada massa de polpa seca. Inicialmente foi realizada a determinação do rendimento das extrações com diferentes solventes e o teor de fosfolipídeos nos óleos extraídos. Os dados de rendimento de extração e teor de fosfolipídeos no óleo estão presentes na Tabela 3.1.

TABELA 3.1 – RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES DE ÓLEO E TEOR DE FOSFOLIPÍDEO NO ÓLEO E NA POLPA SECA DE ABACATE

	Etanol	Etanol 3X	Acetona 3X	Hexano	Metanol: Clorofórmio	Metanol: Clorofórmio + Acetona
Rendimento da extração em óleo % (m/m)	13,51±0,17% ^a	48,72±0,49% ^c	51,26±0,11% ^d	40,62±0,98% ^b	49,37±0,06% ^c	52,34±0,04% ^d
Teor de fosfolipídio no óleo % (m/m)	1,65±0,02% ^e	0,94±0,04% ^c	0,40±0,00% ^b	0,89±0,01% ^c	0,24±0,01% ^a	1,09±0,06% ^d
Rendimento de fosfolipídeo por polpa seca - % (m/m)	0,22 %	0,46 %	0,21 %	0,36 %	0,12 %	0,57 %

Nota: Letras diferentes na mesma linha correspondem a diferença significativa ao nível de 0,05 %, pelo teste de Tukey.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 3.1, foi escolhida para continuação dos experimentos, a extração com metanol:clorofórmio (2:1) + Acetona. Com essa extração obtém-se 5,7 g de fosfolipídeo para cada kg de polpa se abacate seco, para a variedade Margarida. O segundo maior rendimento de fosfolipídeo foi encontrado para a extração com etanol repetida três vezes (0,46 % m/m). As demais extrações, como a extração com acetona repetida três vezes e a extração com a mistura metanol:clorofórmio (2:1), que apresentaram um rendimento de óleo médio de 50 %, tiveram teor de fosfolipídeos inferior quando comparado a extração metanol:clorofórmio (2:1) + acetona.

O teor de fosfolipídeos nas extrações realizadas foi comparado também ao encontrado em amostras comerciais de óleo de abacate. Os óleos comerciais, bruto e refinado, apresentaram teor de fosfolipídeos abaixo de 0,01 %. Esse produto comercial é proveniente de extração por tratamento enzimático, seguido de centrifugação para separação do óleo. Neste caso, quando adicionada a água para a realização da extração o fosfolipídeo, devido à sua extremidade polar, permanecerá principalmente na fase aquosa. Deste modo, mesmo o óleo bruto não terá quantidades consideráveis deste componente. Isto, por um lado, facilita o processo de refino do óleo, pois evita a etapa de remoção do fosfolipídeo (degomagem),

porém, por outro lado, o fosfolipídeo que é descartado junto com a polpa é um produto de alto valor agregado, e valorizaria a produção de óleo de abacate, pela obtenção de subprodutos, da mesma forma que acontece na extração do óleo de soja.

Para as demais seções deste capítulo foi analisado apenas o óleo obtido pela extração com metanol:clorofórmio + acetona. Todos os resultados obtidos foram comparados com o óleo de abacate comercial bruto e refinado.

3.3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO

A Tabela 3.2 apresenta o teor de umidade e a densidade dos óleos de abacate comercial bruto (OCB), comercial refinado (OCR), extraído bruto (OEB) e extraído degomado (OED).

TABELA 3.2 – TEOR DE UMIDADE E DENSIDADE DOS ÓLEOS DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED).

	OCB	OCR	OEB	OED
Teor de Umidade (%)	0,3±0,0 ^b	0,1±0,0 ^a	0,4±0,00 ^c	0,1±0,0 ^a
Densidade (g/cm ³)	0,9215±0,0003 ^b	0,9209±0,001 ^b	0,9415±0,004 ^c	0,8823±0,0047 ^a

Nota: Letras diferentes na mesma linha correspondem a diferença significativa ao nível de 0,05 %, pelo teste de Tukey.

Os óleos brutos apresentaram baixo teor de umidade, porém superior ao permitido pela legislação. Os valores de umidade encontrados para os óleos comercial refinado e extraído degomado estão de acordo com o especificado pela Normativa 49, de 22 de dezembro de 2006, a qual deve ser igual ou inferior a 0,1 % (m/m).

De acordo com a Resolução 482, de 23 de setembro de 1999, a densidade dos óleos comerciais a 20°C deve estar entre 0,919 e 0,925 g/cm³. Os óleos extraídos em laboratório, tanto o bruto como o degomado, apresentaram valores de densidade bastante diferentes do estabelecido. Isto se deve provavelmente à presença de outros constituintes removidos durante a extração comercial que, presentes no óleo extraído em laboratório, alteram a sua densidade, como fosfolipídeos, insaponificáveis, entre outros. Os óleos comerciais apresentaram densidade de acordo com o estipulado na legislação.

3.3.2.1 Perfil de Ácidos Graxos

O perfil de ácidos graxos dos óleo de abacate foi determinado por cromatografia gasosa. A Tabela 3.3 apresenta os valores encontrados.

TABELA 3.3 – COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED).

Ácido Graxo	Composição (%)			
	OCB	OCR	OEB	OED
Ácido Palmítico (C16:0)	20,30	8,27	23,97	24,36
Ácido Palmitoleico (C16:1)	3,40	0,76	2,72	2,69
Ácido Esteárico (C18:0)	0,59	1,83	0,61	0,77
Ácido Oleico (C18:1n9c)	51,68	52,90	51,72	50,31
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	13,82	16,90	14,90	15,58
Ácido γ -Linolênico (C18:3n3)	0,73	4,35	0,97	0,99
Ácido Erúico (C20:1)	nd	0,53	nd	0,82
Ácido α -Linolênico (C18:3n6)	nd	0,68	nd	nd
Ácido Heneicosanoico (C21:0)	nd	nd	3,55	2,76
Ácido Docosadienoico (C22:2)	1,77	1,77	nd	nd
Ácido Tricosanoico (C23:0)	nd	nd	1,59	1,33
Ácido Ligocérico (C24:0)	1,66	2,00	nd	nd
Ácido Eicosapentaenoico – EPA (C20:5n3)	1,17	2,96	nd	nd
Ácido Nervônico (C24:1)	3,26	4,83	nd	nd
Ácido Docosahexaenoico – DHA (C22:6n3)	1,61	2,22	nd	nd

Nota: nd – não detectado

O óleo de abacate é conhecido por ser rico em ácido oleico. Foi encontrado teor de ácido oleico acima de 50 % para os quatro óleos analisados (OCB, OCR, OEB e OED). Berasategi et al. (2012) encontrou 54,4 % deste ácido graxo para a variedade Hass, Knothe (2013) encontrou 58,6 %, para o mesmo ácido graxo para a variedade Hass. Massafera, Costa e Oliveira (2010) encontraram para a variedade Fortuna 50,3 % de ácido oleico. Além destes, diversos outros autores também apresentam resultados similares. Neste trabalho também se encontrou concentrações de ácido oleico acima de 50 %. O ácido linoleico também foi encontrado em alta concentração, entre 13,82 e 16,90 %. Ácidos graxos insaturados, como o ácido oleico, linoleico e linolênico, são conhecidos por efeitos cardiovasculares benéficos (GURR, 1992), o que faz do abacate, mesmo sendo um produto com alto teor de lipídeos, um produto com benefícios a saúde.

3.3.2.2 Análises Térmicas

As análises termogravimétricas (TG) dos OCB, OCR, OEB e OED foram realizadas com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 3.1, assim como a termogravimetria derivada (DTG).

Com os dados apresentados na Figura 3.1, observa-se que a temperatura de degradação térmica das frações lipídicas do abacate, tanto o comercial como o extraído em laboratório foi entre 350 e 500°C. A degradação térmica encontrada por Santana et al. (2015) para óleos de abacate, da variedade Hass foi entre as temperaturas de 350 e 450 °C. Os valores encontrados foram bem próximos, mesmo sendo lipídeos obtidos a partir de diferentes variedades de abacate. Esse comportamento é esperado, pois em geral estes óleos apresentam composição semelhante de ácidos graxos.

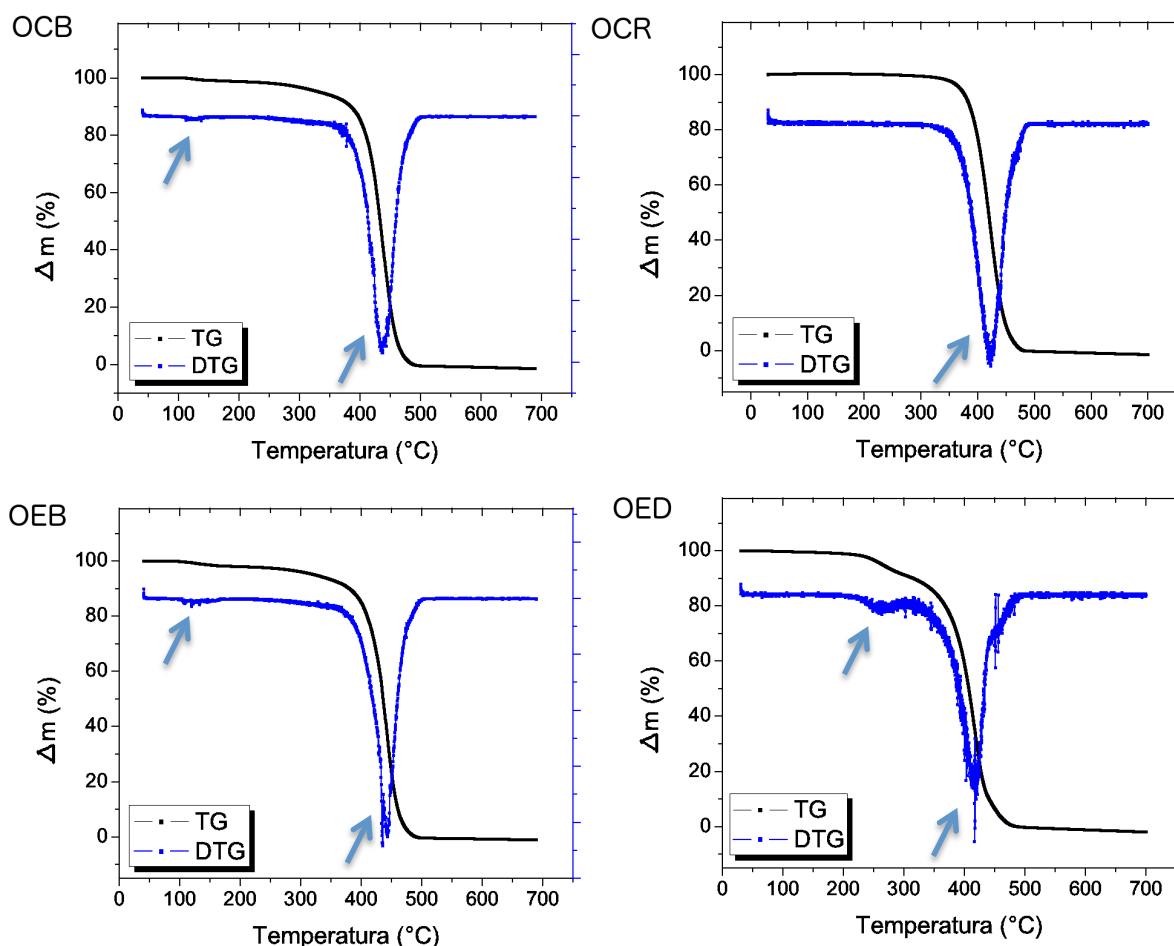


FIGURA 3.1 – CURVAS DE TERMOGRAVIMETRIA (TG) E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) PARA AS AMOSTRAS: OCB – ÓLEO COMERCIAL BRUTO; OCR – ÓLEO COMERCIAL REFINADO; OEB – ÓLEO EXTRAÍDO BRUTO; E OED – ÓLEO EXTRAÍDO DEGOMADO.

O OCB apresenta perda de quase 5 % de sua massa entre as temperaturas de 230 e 300 °C, essas perdas podem ser devido a resíduos da extração enzimática que permaneceram na amostra. Após o refino deste óleo, ou seja é possível observar para o OCR apenas a degradação da fração lipídica, praticamente sem perdas na massa até 350 °C. Para o óleo extraído bruto, observa-se que há uma pequena perda de massa em torno de 100 °C, esta perda pode estar relacionada aos solventes ou umidade presentes na amostra. Para esta mesma amostra, durante a degradação da fração lipídica, é possível observar a sobreposição de picos de DTG, provavelmente resultantes de diferentes lipídeos presentes na amostra. No OED, a perda de massa é considerável na região de temperatura entre 350 e 500 °C, com poucas perdas de massa devido a solventes, o que ocorreria em temperaturas abaixo de 300°C, e outros tipos de resíduos com baixa temperatura de degradação.

3.3.2.3 Comportamento Reológico

Foi analisado o comportamento reológico dos diferentes óleos de abacate. A Figura 3.2 apresenta as curvas de fluxo dos óleos de abacate comercial bruto (OCB), comercial refinado (OCR), extraído bruto (OEB) e extraído degomado (OED) nas temperaturas de 10 e 20 °C.

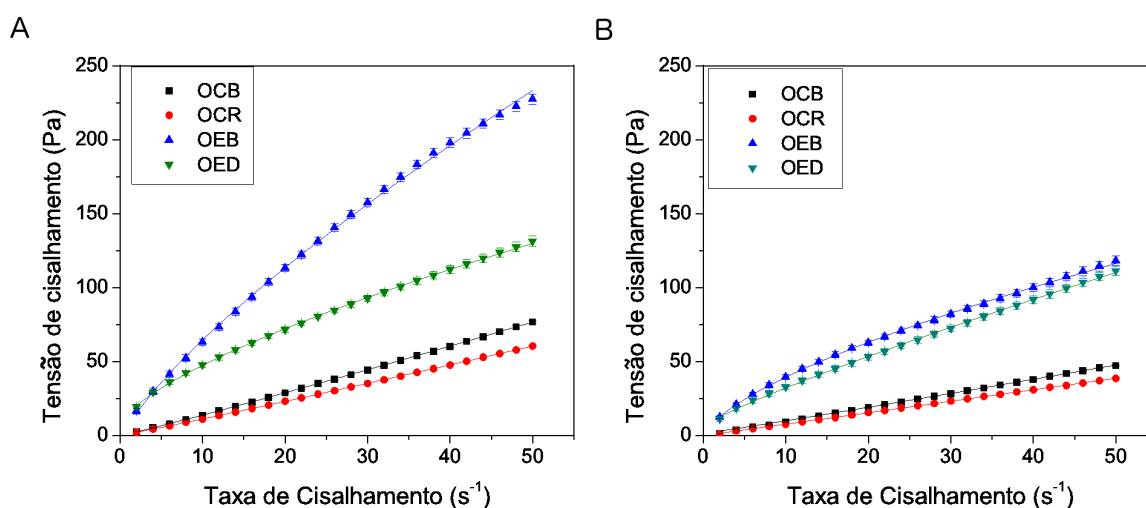


FIGURA 3.2 – CURVAS DE FLUXO DOS ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED). NAS TEMPERATURAS DE (A) 10 °C E (B) 20 °C.

Os óleos são normalmente fluidos Newtonianos, ou seja, apresentam uma relação linear entre taxa e tensão de cisalhamento (BROCK et al., 2008), devido a este fato foram realizadas apenas análises reológicas não-oscilatórias.

Na Figura 3.2, em conjunto com as Tabelas 3.4 e 3.5, observa-se que os óleos comerciais possuem comportamento Newtoniano, com índice de comportamento n próximo a 1, enquanto os óleos extraídos apresentaram comportamento pseudoplástico nas duas temperaturas analisadas. Estes óleos podem ter comportamento não-Newtoniano quando se encontram misturados a outros componentes, como por exemplo, pequenas quantidade de água, o que pode formar emulsões muito diluídas. O óleo extraído bruto não apresentou tensão inicial, porém o óleo extraído degomado apresenta tensão inicial nas duas temperaturas analisadas.

As Tabelas 3.4 e 3.5 apresentam os ajustes dos modelos de Ostwald-de Waele e Herschel-Bulkley aos dados. Os dois modelos utilizados (Ostwald-de Waele e Herschel-Bulkley) tiveram ajuste aos dados experimentais, com R^2 próximo a 1, e SQR próximo a zero.

TABELA 3.4 – AJUSTES DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DO CURVAS DE FLUXO DOS ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), À EQUAÇÃO DE OSTWALD-DE WAELE, NAS TEMPERATURAS DE 10 E 20 °C.

10 °C	K	n	R ²	SQR
OCB	0,1193±0,0006	1,0643±0,0014	0,9999	0,0649
OCR	0,1009±0,0005	1,0459±0,0014	0,9999	0,0690
OEB	0,8290±0,0104	0,6715±0,0036	0,9979	0,6514
OED	0,5663±0,0197	0,7549±0,0100	0,9965	0,1240
20 °C	K	n	R ²	SQR
OCB	0,0923±0,0012	1,0083±0,0035	0,9997	0,0223
OCR	0,0770±0,0005	1,0002±0,0018	0,9999	0,1069
OEB	1,002±0,0214	0,8080±0,0063	0,9990	0,0916
OED	1,1946±0,0269	0,6052±0,0068	0,9952	0,4403

Nota: K: índice de consistência; n: índice de comportamento; SQR: soma dos quadrados dos resíduos.

TABELA 3.5 – AJUSTES DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DO CURVAS DE FLUXO DOS ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), À EQUAÇÃO DE HERSCHEL-BULKLEY, NAS TEMPERATURAS DE 10 E 20 °C.

10 °C	τ_0	k	n	R ²	SQR
OCB	0,0021±0,0038	0,1187±0,0012	1,0656±0,0026	0,9999	0,0670
OCR	0,0192±0,0028	0,0968±0,0006	1,0559±0,0017	0,9999	0,0237
OEB	-0,0521±0,0846	0,8524±0,0396	0,6701±0,0106	0,9984	0,4937
OED	0,9192±0,0677	0,3569±0,0210	0,8621±0,0142	0,9992	0,1240
20 °C	τ_0	k	n	R ²	SQR
OCB	-0,0328±0,0139	0,0984±0,0029	0,9932±0,0070	0,9997	0,0223
OCR	0,005±0,0073	0,0762±0,0017	1,0036±0,0053	0,9999	0,1069
OEB	-0,3584±0,1342	1,1368±0,0571	0,7776±0,0123	0,9994	0,0916
OED	0,7057±0,0683	0,8194±0,0343	0,6920±0,0100	0,9987	0,1132

Nota: τ_0 : tensão inicial K: índice de consistência; n: índice de comportamento; SQR: soma dos quadrados dos resíduos.

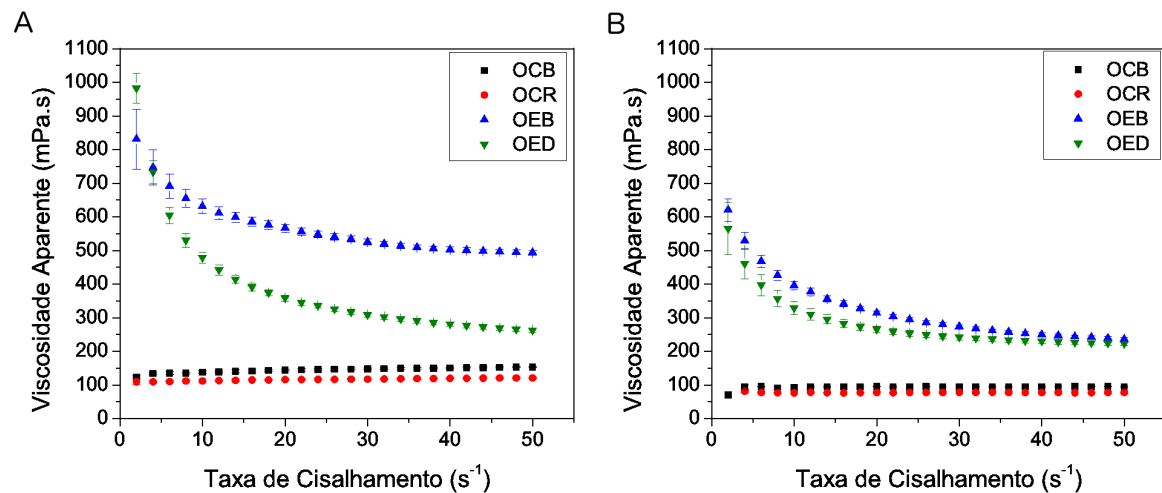


FIGURA 3.3 – CURVAS DE VISCOSIDADE DOS ÓLEOS DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCR), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED) NAS TEMPERATURAS DE (A) 10 °C E (B) 20 °C.

TABELA 3.6 – VISCOSIDADE APARENTE DOS ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), NAS TEMPERATURAS DE 10 E 20 °C, NAS TAXAS DE CISALHAMENTO DE 6, 20, 30 E 40 s^{-1} .

Viscosidade Aparente (mPa.s)				
10 °C	$\dot{\gamma} = 6 s^{-1}$	$\dot{\gamma} = 20 s^{-1}$	$\dot{\gamma} = 30 s^{-1}$	$\dot{\gamma} = 40 s^{-1}$
OCB	135,04±4,28 ^c	144,73±2,70 ^c	147,99±2,33 ^c	151,03±1,98 ^c
OCR	110,11±3,23 ^d	115,89±2,52 ^d	117,39±1,80 ^d	119,25±1,11 ^d
OEB	691,42±36,26 ^a	566,88±11,60 ^a	525,17±8,85 ^b	503,85±7,64 ^a
OED	604,67±24,40 ^b	265,94±10,09 ^b	241,87±7,70 ^a	229,83±6,64 ^b
20 °C	$\dot{\gamma} = 6 s^{-1}$	$\dot{\gamma} = 20 s^{-1}$	$\dot{\gamma} = 30 s^{-1}$	$\dot{\gamma} = 40 s^{-1}$
OCB	96,18±2,21 ^b	95,74±0,84 ^c	94,06±0,56 ^c	95,02±1,28 ^c
OCR	77,45±1,61 ^c	77,54±2,70 ^d	77,82±2,24 ^d	77,40±1,70 ^d
OEB	468,34±18,35 ^a	314,56±6,83 ^b	274,48±5,17 ^b	250,02±4,96 ^b
OED	397,51±31,54 ^a	358,60±9,08 ^a	309,05±6,88 ^a	280,92±6,60 ^a

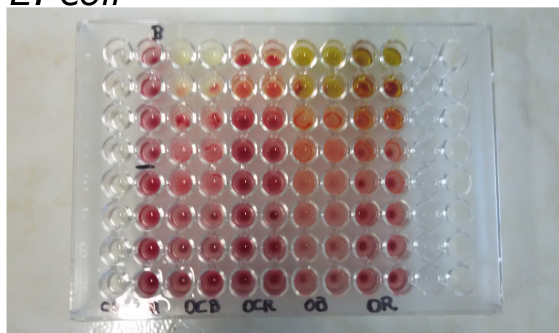
Nota: Letras sobrescritas diferentes indicam diferença significativa entre as médias em cada coluna ($p < 0.05$).

Como apresentado na Figura 3.3 e na Tabela 3.6, a viscosidade dos óleos diminui com o aumento da temperatura. Isto ocorre devido ao fato da viscosidade de uma solução ser função das forças intermoleculares e interação dos componentes solúveis, que restringem o movimento molecular. Quando os óleos são aquecidos, a viscosidade diminui uma vez que a energia térmica das moléculas aumenta e consequentemente aumenta a distância entre essas moléculas devido à expansão térmica (CONSTENLA; LOZANO; CRAPISTE, 1989). Este comportamento é comum em óleos e é descrito também por BROCK et al. (2008), para óleos de soja, milho, girassol, arroz, algodão, oliva e canola, os quais apresentaram, a 20 °C, viscosidades aparentes de 59,0, 67,6, 58,3, 73,8, 67,7, 79,7 e 73,1 mPa.s respectivamente, e a 70 °C apresentaram viscosidades aparentes de 16,2, 14,0, 12,6, 14,2, 14,0, 14,9 e 14,5 mPa.s respectivamente.

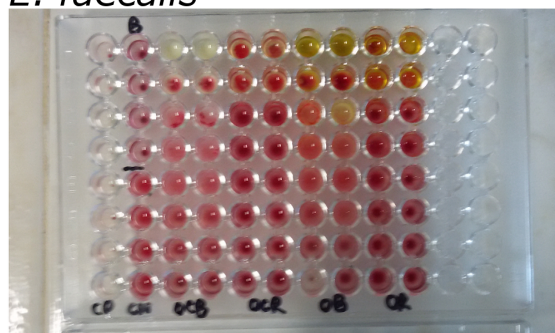
3.3.2.4 Análise Antimicrobiana do Óleo de Abacate

A atividade antimicrobiana foi avaliada nos óleos de abacate bruto e refinado comercial, e bruto e degomado extraído. A Figura 3.4 apresenta as microplacas com o resultado de inibição após 24 horas.

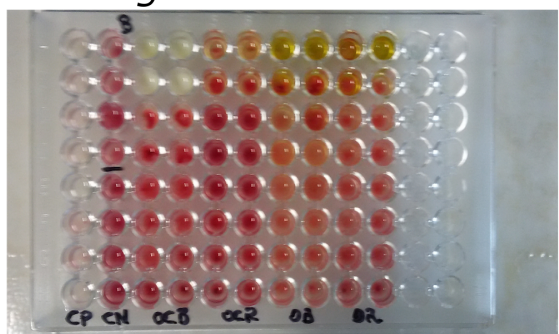
E. coli



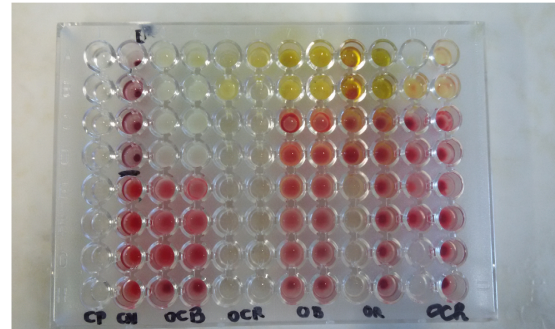
E. faecalis



P. aeruginosa



S. aureus



S. epidermidis

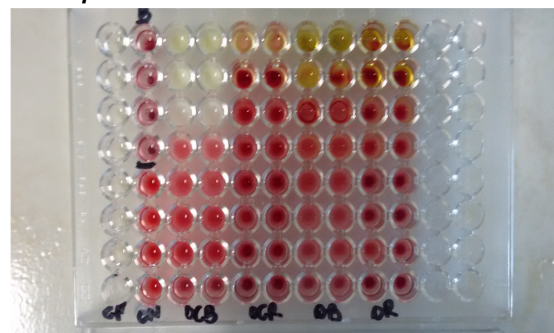


FIGURA 3.4 – MICROPLACAS UTILIZADAS PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DE CRESCIMENTO PARA AS BACTÉRIAS *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli*.

Nota: Poços com coloração rosa apresentam crescimento de microrganismos

A Tabela 3.7 apresenta a atividade antimicrobiana para o óleo de abacate. As concentrações indicadas são as que apresentaram inibição ao crescimento bacteriano em ambos os poços da duplicata.

TABELA 3.7 – ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEO DE ABACATE COMERCIAL BRUTO (OCB), COMERCIAL REFINADO (OCR), EXTRAÍDO BRUTO (OEB) E EXTRAÍDO DEGOMADO (OED), PARA O ENSAIO DE MICRODILUIÇÃO ELOFF.

Bactéria	Concentração Inibitória Mínima			
	OCB	OCR	OEB	OED
<i>E. coli</i>	50 %	NAI	50 %	NAI
<i>E. faecalis</i>	50 %	NAI	50 %	NAI
<i>P. aeruginosa</i>	25 %	NAI	50 %	NAI
<i>S. aureus</i>	6,25 %	NAI	25 %	NAI
<i>S. epidermidis</i>	12,5 %	NAI	50 %	NAI

Nota: NAI – Não apresentou inibição em nenhuma concentração igual ou inferior a 50 %

O óleo de abacate comercial bruto e o extraído bruto apresentaram inibição ao crescimento para todos os microrganismos testados. Os óleos comercial refinado e extraído degomado não inibiram o crescimento em concentrações iguais ou inferiores a 50 %.

A inibição ao crescimento do *S. Aureus* foi a mais pronunciada para os óleos brutos, com inibição de crescimento a partir de 6,25 % do OCB e 25% do OEB, porém outros microrganismos também foram inibidos nesses óleos. Com estes resultados é possível verificar que o óleo oriundo de diferentes processos de extrações e etapas de processamento, possuem componentes diferentes, os quais inibiram com maiores ou menores concentrações, as diferentes bactérias. Diferentes compostos presentes nos óleos apresentam conhecidos efeitos antimicrobiano, entre eles estão compostos fenólicos (HAIYAN et al., 2007; HERALD; DAVIDSON, 1983).

Com os dados obtidos, não é possível fazer uma relação de componentes com inibição de atividade, pois a concentração de diferentes constituintes aumenta ou diminui durante o processamento, e desta mesma forma, cada um desses constituintes irá agir de alguma forma influenciando a inibição do crescimento das diferentes bactérias estudadas.

Pode-se concluir, porém, que os óleos brutos de abacate possuem atividade antimicrobiana para as bactérias *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichi coli* em diferentes concentrações. Com os resultados obtidos, pode-se dizer que produtos que apresentam óleo bruto de abacate, com concentração igual ou superior a 50 %, também apresentaram inibição ao crescimento destes cinco micro-organismos.

3.4 CONCLUSÕES

As extrações realizadas com diferentes solventes acarretaram em produtos com diferentes concentrações de fosfolipídeo, sendo que o melhor rendimento de fosfolipídeo em óleo a partir da polpa seca foi obtido utilizando como solventes metanol:clorofórmio (2:1) seguido de extração com acetona (rendimento de 0,57 g de fosfolipídeo por 100 g de polpa seca), e esta extração foi a escolhida para sequência do trabalho. Comparando os óleos extraídos em laboratório com os comerciais, observou-se que o óleo bruto, apresenta densidade superior aos óleos comerciais, e após remoção dos fosfolipídeos, densidade inferior. A fração lipídica da polpa do abacate Margarida é rica em ácido oleico, em torno de 50 %, e possui também quantidades elevadas de ácidos palmítico (8,27 a 24,36 %) e linoleico (13,82 a 16,90 %). Os óleos comerciais apresentaram comportamento Newtoniano a 10 e 20 °C, enquanto os óleos extraídos em laboratório apresentaram comportamento pseudoplástico nestas mesmas temperaturas. Com a análise termogravimétrica observou-se que a degradação térmica dos óleos acontece em temperaturas superiores a 350 °C, porém nos óleos brutos observa-se a presença de impurezas, com degradação térmica destas em temperaturas inferiores a do óleo. Os óleos brutos inibiram o crescimento das bactérias *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichi coli*, em diferentes concentrações. Isto indica que a utilização deste óleo, pode atuar na conservação do produto evitando a deterioração bacteriana.

CAPÍTULO IV
EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS DO ABACATE

RESUMO

Os fosfolipídeos são moléculas anfifílicas, portanto possuem afinidade tanto com moléculas polares, quanto com moléculas apolares. Esta propriedade permite que estes compostos, quando adicionados em uma mistura água e óleo, adsorvam-se na interface e assim diminuam a tensão entre essas duas fases. Desta forma, este trabalho teve o objetivo de extrair e caracterizar as propriedades interfaciais e térmicas dos fosfolipídeos do abacate. Inicialmente determinou-se o perfil de fosfolipídeos por cromatografia líquida de alta eficiência, em seguida, foram realizados testes de tensão interfacial dinâmica, nas concentrações de 0,001, 0,005, 0,01, 0,05 e 0,1 g L⁻¹ de fosfolipídeos para a interface óleo de colza e água, e reologia interfacial dilatacional nas mesmas concentrações. Por último, foram realizados testes térmicos de termogravimetria e calorimetria diferencial exploratória. Todos os resultados foram comparados aos do fosfolipídeo de soja, produto comumente utilizado pela indústria de alimentos. Os principais fosfolipídeos presentes na fração lipídica de abacates da variedade Margarida são a fosfatidiletanolamina (59,3 %), seguido pela lisofosfatidilcolina (30,8 %) e após fosfatidilinositol (14,9 %). Observou-se a diminuição da tensão interfacial óleo de colza-água, com o aumento da concentração de fosfolipídeos. Na análise termogravimétrica dos fosfolipídeos do abacate ocorreu degradação térmica de aproximadamente 10 % de sua massa em temperaturas inferiores a 200°C, provavelmente devido à presença de impurezas. Essas impurezas não são observadas no termograma dos fosfolipídeos da soja, os quais apresentam degradação térmica entre 350 e 500 °C.

4.1 INTRODUÇÃO

Os fosfolipídeos (PL) apresentam em sua estrutura longas cadeias apolares e regiões polares, possuindo afinidade tanto com substâncias polares quanto com substâncias apolares, o que os confere atividade emulsificante. Quando adicionados em uma emulsão, são adsorvidos na interface óleo água e irão interagir com as fases aquosa e oleosa, diminuindo a tensão entre as fases. A diminuição da tensão interfacial irá facilitar a formação de emulsões com gotas menores e aumentará a estabilidade da emulsão após formação (LANGEVIN, 2000).

O estudo das propriedades dos fosfolipídeos do óleo de abacate torna-se interessante, a fim de que este possa ser utilizado na indústria, pois além de ser um produto natural e apresentar valor nutricional inerente, contribui para a textura dos alimentos (COMAS; WAGNER; TOMÁS, 2006).

Embora seja de conhecimento que o abacate possua fosfolipídeos em sua fração lipídica (SZUHAJ, 1989), não foram encontrados estudos que avaliem as propriedades dos fosfolipídeos derivados do abacate, como diminuição da tensão interfacial. Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar a composição de fosfolipídeos encontrados no óleo de abacate da variedade Margarida, obtido por processo de extração com solventes metanol, clorofórmio e acetona, a frio, determinar as propriedades interfaciais de tensão interfacial dinâmica, reologia interfacial dilatacional e determinar sua degradação térmica por análises de termogravimetria.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 EXTRAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS

A metodologia de extração dos fosfolipídeos a partir do óleo de abacate foi realizada conforme Vianna; Pires; Viana (1999) modificado. Foi adicionado 10 % de água ao óleo de abacate e aquecidos até 60 °C, em seguida, a mistura foi homogeneizada a 10.000 rpm, em homogeneizador Polytron PT 3100 D (Kinematica AG, Suíça) por três minutos para formação de uma emulsão. A emulsão formada foi centrifugada a 5000 rpm por 3 minutos em centrífuga Excelsa II (Fanen, Brasil), para a separação das fases. Após separação das fases óleo e água, o óleo foi removido e a mistura de água e fosfolipídeos foi liofilizada em liofilizador Liobras L101 (Liobras, Brasil) para remoção da água. O teor de fosfolipídeo foi

determinado no produto final e no óleo degomado (OED), a fim de verificar a eficiência da extração.

4.2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS

4.2.2.1 *Composição de Fosfolipídeos*

A determinação da composição de fosfolipídeos foi realizada pela empresa IMCOPA S/A, localizada no Município de Araucária, PR.

O preparo da amostra foi realizado pesando aproximadamente 400 mg de fosfolipídeos em um balão volumétrico de 50 mL, em seguida, diluindo essa massa em 30 mL de solução de n-hexano:2-propanol (80:20), agitando até completa homogeneização e passando por filtros com diâmetro de 0,22 μm de poro.

A determinação a composição dos fosfolipídeos foi realizada utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em Cromatógrafo Agilent, modelo 1200 series, com detector ELSD (*Evaporative Light Scattering Detector* – Detector evaporativo por espalhamento de luz) 1260 Infinity e coluna Merck LiChrospher 100 Diol 250 x 4,0 mm, 5,0 μm . O volume de injeção foi de 20 μL , a temperatura do forno foi igual a 55 °C e o fluxo de fase móvel de 1 mL/min. A temperatura da coluna foi de 50 °C. Foram utilizadas duas fases móveis:

Fase A: n- Hexano, 2-propanol, Ácido Acético Glacial, Trietilamina (814:170:15:0,8 v/v/v/v).

Fase B: 2-propanol, Água ultrapurificada, Ácido Acético Glacial, Trietilamina (844:140:15:0,8 v/v/v/v).

4.2.2.2 *Propriedades Interfaciais*

A determinação das propriedades interfaciais dos fosfolipídeos de abacate foi realizada no Instituto de Tecnologia de Karlsruhe (Karlsruher Institut für Technologie – KIT, Alemanha), durante período de doutorado sanduíche, sob supervisão da Prof. Dr.-Ing. Heike P. Schuchmann.

O preparo das amostras para as análises interfaciais foi realizado pela preparação de uma solução de fosfolipídeos de abacate e de soja, na concentração de 0,1 g.L⁻¹. Os fosfolipídeos foram adicionados ao óleo de colza e esta mistura permaneceu em agitação por

60 minutos em agitador magnético, na temperatura de 60 °C para completa homogeneização. A partir da solução com concentração de 0,1 g.L⁻¹, foram feitas as diluições para o preparo das soluções nas concentrações de 0,001; 0,005; 0,01 e 0,05 g.L⁻¹ para os fosfolipídeos de abacate e de soja.

O óleo de colza foi utilizado apenas nesta parte do trabalho devido sua disponibilidade no mercado alemão, e pelo objetivo do estudo ser a caracterização dos fosfolipídeos do abacate e sua comparação com os fosfolipídeos da soja.

A tensão interfacial dinâmica (Figura 1.12) foi determinada utilizando um tensiômetro SInterface PAT1 (SInterface Technology, Alemanha), acoplado a um banho de circulação interna Jubalo modelo EV v.2. Foram realizadas medidas de tensão interfacial durante 20.000 segundos.

As medidas de reologia interfacial dilatacional foram realizadas em duas séries de 10 oscilações, com tamanho da gota variando entre 33,5 e 36,5 mm² e frequência de 0,02 Hz. As oscilações foram realizadas em 9.000 e 18.000 segundos. As análises foram realizadas a 20°C.

A variação da área imposta pelo equipamento em relação à resposta da tensão interfacial é realizada a fim de avaliar a elasticidade dilatacional interfacial complexa $|E^*|$ (Eq. 4.1) (AMINE et al., 2014; HECHT et al., 2012):

$$|E^*| = \frac{dy^*}{d \ln A^*} \quad (4.1)$$

Onde A^* é a área complexa da gota e y^* é a tensão interfacial complexa, assumindo que a resposta interfacial de área é senoidal. Assim pode-se avaliar a parte real, ε' , e a parte imaginária, ε'' , da elasticidade dilatacional interfacial complexa (Eq. 4.2):

$$|E^*| = \varepsilon' + i\varepsilon'' \quad (4.2)$$

Com $i = \sqrt{-1}$. ε' caracteriza o comportamento conservativo na interface, enquanto ε'' é relativo ao fenômeno interfacial de perda ou dissipação.

O módulo interfacial dilatacional, ou módulo viscoelástico, é dado por (Eq. 4.3):

$$E = \sqrt{\varepsilon'^2 + \varepsilon''^2} \quad (4.3)$$

4.2.2.3 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica foi utilizada para observar o comportamento de degradação térmica dos fosfolipídeos do abacate e compará-los aos da soja. As análises foram

realizadas em um módulo termogravimétrico marca Perkin Elmer modelo TGA 4000, com 10 a 15 mg de amostra, aquecidas de 40 a 700 °C, e taxa de aquecimento de 20 °C/min, com atmosfera de N₂ (20 mL/min).

As duas amostras analisadas, contendo fosfolipídeos de soja e de abacate, foram padronizadas para apresentarem a mesma concentração de fosfolipídeos. Nos dois casos foram obtidas amostras com 10 % (m/m) de fosfolipídeos. Os fosfolipídeos de soja foram padronizados com óleo de soja, enquanto os de abacate com óleo de abacate.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FOSFOLIPÍDEOS

Os fosfolipídeos presentes no óleo de abacate da variedade Margarida foram caracterizados por CLAE e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4.1. Nesta tabela também são apresentados os valores para comparação com os fosfolipídeos de soja, e com os dados apresentados por Takenaga et al. (2008).

TABELA 4.1 – COMPOSIÇÃO FOSFOLIPÍDEOS DA POLPA DO ABACATE DA VARIEDADE MARGARIDA, ANALISADOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA, EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA E COM O PERFIL DE FOSFOLIPÍDEOS DA SOJA.

	Abacate	Abacate Takenaga et al. (2008)	Soja
Ácido Fosfatídico	Abaixo do limite de detecção	11 %	11 %
Fosfatidiletanolamina	54 %	38 %	18 %
Fosfatidilglicerol	Abaixo do limite de detecção	7 %	2 %
Fosfatidilcolina / Lisofosfatidilcolina	30 %	35 %	31 %
Fosfatidilinositol	14 %	1%	29 %

Nota: Extração realizada por Takenaga et al. (2008) com Clorofórmio: Metanol (2:1), obtidos de abacate da variedade Hass

Os valores encontrados de fosfatidilcolina/lisofosfatidilcolina, foram próximos ao encontrado na literatura (TAKENAGA et al, 2008), e ao encontrado na soja. A concentração de fosfatidilinositol encontrado nos lipídeos extraídos, foi menor que o encontrado na soja, porém superior ao encontrado na literatura para o abacate. O valor de fosfatidiletanolamina foi superior nos lipídeos do abacate extraídos em laboratório. Os compostos fosfatidilglicerol e ácido fosfatídico não foram detectados nos lipídeos do abacate no presente trabalho.

Entre os fosfolipídeos encontrados no abacate, a fosfatidilcolina tem facilidade para formação de emulsões O/A, enquanto a fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol (em menor intensidade) tendem a formar emulsões do tipo A/O (XU et al, 2011). Essas tendências existem, porém, como há uma mistura destes fosfolipídeos, a formação de emulsões O/A ou A/O irá também depender de diversos outros fatores que influenciam seu ponto de inversão, como concentração de fases aquosa e oleosa, pH, concentração de sal, temperatura, entre outros.

4.3.2 PROPRIEDADES INTERFACIAIS

Os fosfolipídeos, por serem moléculas anfifílicas, possuem interação tanto com substâncias polares quanto apolares. Assim, quando estes são adicionados em um mistura óleo-água, a parte apolar das longas cadeias dos fosfolipídeos irá interagir com o óleo enquanto a região polar irá interagir com a água. Essas moléculas anfifílicas ficarão adsorvidas na interface óleo e água e diminuirão a tensão interfacial entre essas duas substâncias. A Figura 4.1 apresenta as tensões interfaciais entre óleo de colza e água, em relação ao tempo, para cinco concentrações de fosfolipídeos de abacate, e sem fosfolipídeos.

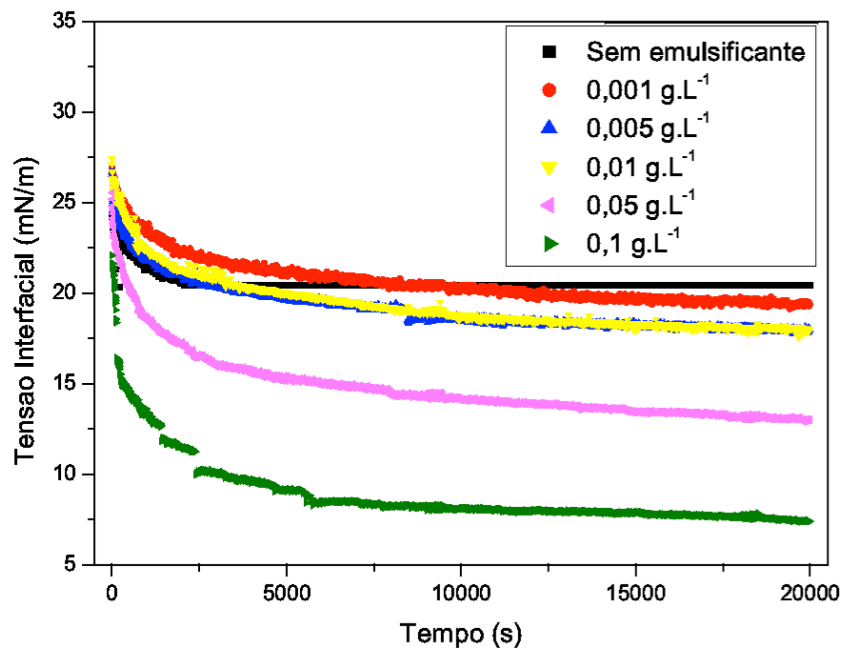


FIGURA 4.1 – TENSÃO INTERFACIAL DINÂMICA ENTRE ÁGUA E ÓLEO DE COLZA PURO E ÁGUA MILI-Q COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE.

Os fosfolipídeos do abacate, em concentrações a partir de $0,05 \text{ g L}^{-1}$, diminuíram a tensão interfacial entre óleo e água, e conforme houve o aumento da concentração de fosfolipídeo, a tensão interfacial diminuiu ainda mais. A partir de $0,05 \text{ g L}^{-1}$ de fosfolipídeos a diminuição da tensão é mais pronunciada, nas concentrações inferiores a $0,05 \text{ g L}^{-1}$ a tensão interfacial é próxima à tensão entre óleo de colza e água sem fosfolipídeo, a qual foi de $20,43 \text{ N/m}$.

Comparando a tensão interfacial dos fosfolipídeos de abacate e os da soja, observa-se que ambos possuem comportamentos parecidos, como é apresentado na Figura 4.2. Na concentração mais alta analisada, $0,1 \text{ g L}^{-1}$, a diminuição da tensão interfacial é mais lenta com os fosfolipídeos provenientes do abacate (Figura 4.2E), do que com os provenientes da soja.

Quando uma gota em uma emulsão sofre um aumento ou uma diminuição na sua área superficial, o emulsificante que está adsorvido em sua superfície terá que se reorganizar e, devido a isso, ocorre a alteração na tensão interfacial entre as duas fases do sistema (McCLEMENTS, 1999). A Figura 4.3 apresenta o comportamento da tensão interfacial de óleo de colza e água, quando alterada a área superficial da gota de óleo, com variação entre $33,5 \text{ mm}^2$ a $36,5 \text{ mm}^2$, em diferentes concentrações de fosfolipídeos de abacate.

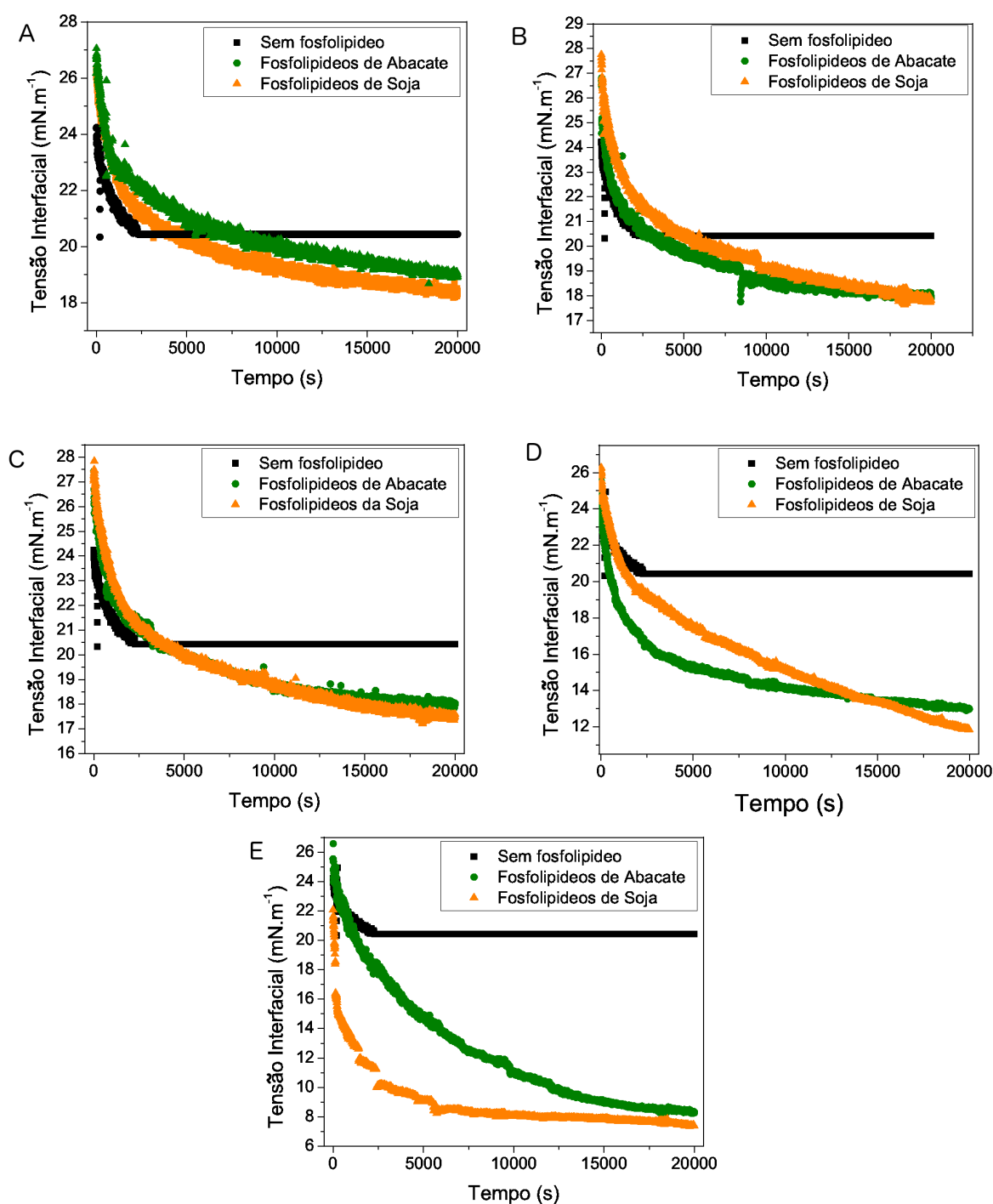


FIGURA 4.2 – TENSÃO INTERFACIAL DINÂMICA ENTRE ÁGUA MILI-Q E ÓLEO DE COLZA, ADICIONADO DOS FOSFOLÍPÍDEOS DE ABACATE E DE SOJA NAS CONCENTRAÇÕES DE (A) $0,001 \text{ g L}^{-1}$; (B) $0,005 \text{ g L}^{-1}$; (C) $0,01 \text{ g L}^{-1}$; (D) $0,05 \text{ g L}^{-1}$ E (E) $0,1 \text{ g L}^{-1}$, EM RELAÇÃO AO ÓLEO.

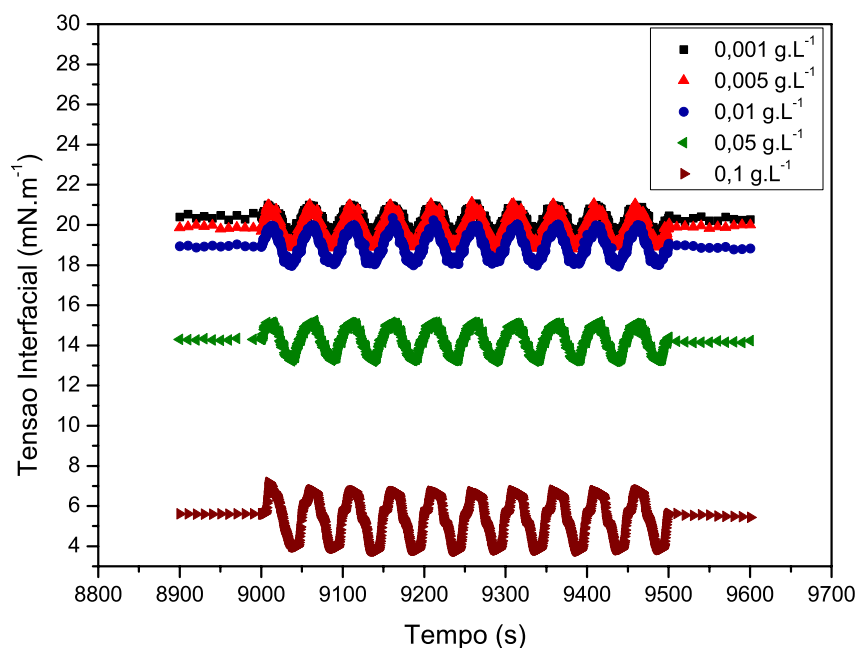


FIGURA 4.3 – TENSÃO INTERFACIAL ENTRE ÓLEO DE COLZA E ÁGUA EM RELAÇÃO AO TEMPO COM VARIAÇÃO DA ÁREA SUPERFICIAL DA GOTA DE ÓLEO ENTRE 33,5 E 36,5 mm², EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FOSFOLÍPÍDEOS DE ABACATE.

Durante a alteração da área superficial da gota de óleo de colza, os fosfolípidos presentes na interface óleo-água tendem a se rearranjar nesta interface. Quando aumenta a área da gota, a concentração de moléculas de fosfolípidos por unidade de área diminui, e estas se afastam uma das outras, e assim há um aumento na tensão interfacial. Quando a área diminui, a concentração de fosfolípidos por unidade de área aumenta, causando assim uma queda na tensão interfacial entre as fases.

A variação do módulo elástico, nas concentrações de 0,005, 0,01, 0,05 e 0,1 g L⁻¹, para os fosfolípidos de soja e de abacate, está demonstrada na Figura 4.4.

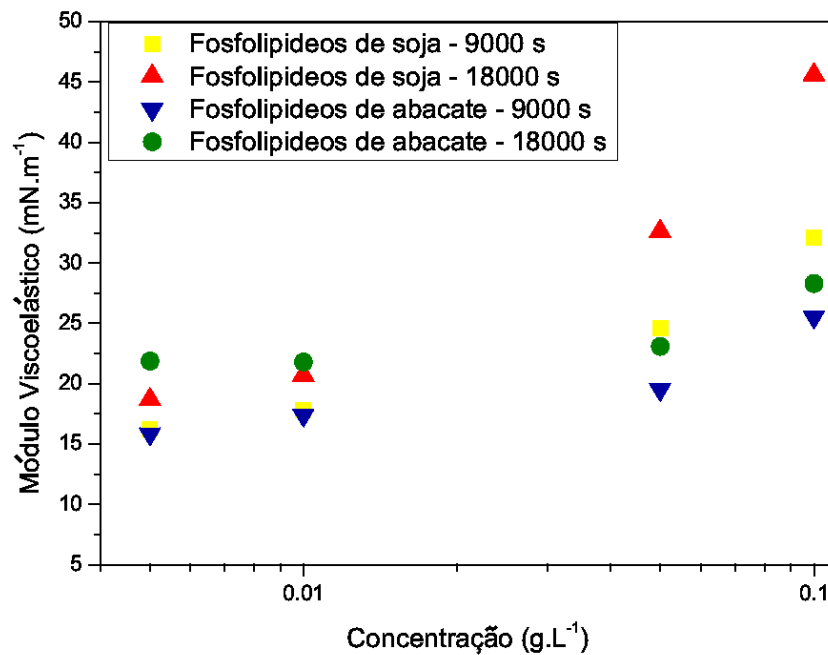


FIGURA 4.4 – MÓDULO VISCOELÁSTICO EM RELAÇÃO À CONCENTRAÇÃO DE FOSFOLÍPÍDEOS DE SOJA E ABACATE, EM DIFERENTES TEMPOS DE OSCILAÇÃO.

O módulo viscoelástico interfacial foi maior à medida que se aumentou a concentração de tensoativos. Observa-se na Figura 4.4 que o aumento desta elasticidade é menor para os fosfolípidos de abacate, em comparação com os da soja, ou seja, o módulo viscoelástico interfacial para os fosfolípidos da soja tem maior influência da concentração que os fosfolípidos do abacate. Em concentrações menores a elasticidade interfacial é próxima para os fosfolípidos e tempos de oscilação avaliados. Em maiores concentrações os fosfolípidos da soja apresentam maiores módulos viscoelásticos interfaciais.

A diferença do módulo viscoelástico com o tempo deve-se ao fato que em tempos maiores a adsorção dos fosfolípidos na interface será maior, isso, portanto, afetará na elasticidade desta camada interfacial, que quando exposta a expansões e compressões responderá de maneira diferente. Para os dois fosfolípidos, soja e abacate, o módulo viscoelástico interfacial foi superior no tempo de 18.000 s, em comparação com o tempo de 9.000 s, pois a adsorção das moléculas na interface no tempo de 18.000 s também é maior.

4.3.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

Na termogravimetria derivada (DTG) são obtidas curvas que correspondem à derivada primeira da curva TG e nos quais os degraus são substituídos por picos que delimitam áreas proporcionais às alterações de massa sofridas pela amostra (IONASHIRO, 2005), como é apresentado na Figura 4.5.

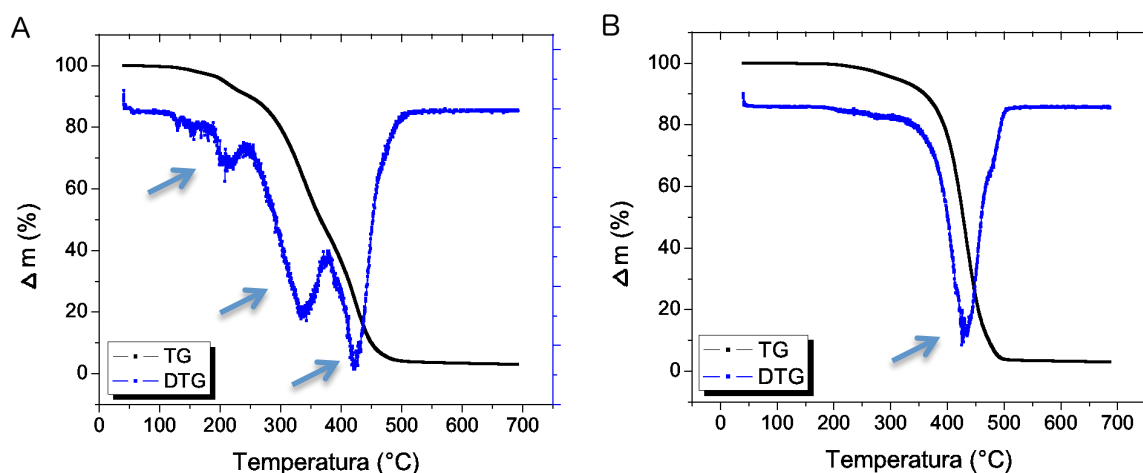


FIGURA 4.5 – CURVAS DE TG E DTG PARA AS AMOSTRAS (A) FOSFOLÍPÍDEOS DE ABACATE E (B) FOSFOLÍPÍDEOS DA SOJA.

Na curva de TG e, mais pronunciado na curva de DTG, verifica-se o início da decomposição térmica do fosfolípídeo do abacate logo após 100 °C. Observa-se um pico mais nítido, com decomposição de aproximadamente 10 % da massa de amostra, em torno de 200 °C, e observa-se uma redução da massa da ordem de 45 %, na faixa de temperatura entre 250 e 400 °C. Estas duas primeiras quedas são resultantes de impurezas contidas no meio. Os fosfolípídeos de abacate não passaram pelo processo de purificação, assim esta amostra contém resíduos de água, ácidos graxos livres, pigmentos, outras frações lipídicas, e componentes solúveis em água que ficaram na amostra.

A decomposição térmica dos fosfolípídeos do abacate propriamente dita ocorre em temperaturas acima de 350 °C, até aproximadamente 500 °C, neste intervalo de temperatura ocorre a diminuição de aproximadamente 40 % da massa inicial da amostra. Nesta temperatura ocorre a degradação térmica dos 10 % de fosfolípídeos presentes e de triacilgliceróis residuais do processo de extração da fração lipídica do abacate.

Para a amostra contendo os fosfolipídeos de soja, observa-se uma pequena redução na massa, inferior a 5 %, entre as temperaturas de 200 a 350 °C. Isto se deve a resíduos presentes na amostra em pequenas concentrações, como umidade, pigmentos, e ácidos graxos livres. Como esta amostra passou pelo processo de purificação a presença de resíduos é baixa. Aproximadamente 90 % da massa da amostra decompõe-se entre as temperaturas de 350 e 500 °C. Esta decomposição está relacionada aos fosfolipídeos e aos triacilglicerois do óleo de soja, uma vez que para a padronização da concentração de fosfolipídeos de soja, estes foram misturados ao óleo de soja.

Mesmo assim, uma característica que pode ser observada é que a degradação de ambas as amostras finaliza em 500 °C. A partir desta temperatura a massa dos fosfolipídeos de soja é de 3,5 % reduzindo para 3,0 % em 700 °C. Para os fosfolipídeos do abacate, após 500 °C, tem-se 4,1 % da massa inicial, diminuindo este valor para 3,0 % em 700 °C. Estes 3,0 % restantes após a temperatura de 700 °C são constituídos pelas cinzas, ou minerais, presentes na amostra.

4.4 CONCLUSÃO

Os fosfolipídeos encontrados em maior concentração a partir da fração lipídica da polpa do abacate da variedade Margarida foram a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol. Observou-se que os fosfolipídeos obtidos a partir do abacate possuem atividades interfaciais, ou seja, atuam diminuindo a tensão interfacial entre óleo e água, quando adsorvidos nesta interface. Os fosfolipídeos do abacate possuem características interfaciais similares aos fosfolipídeos da soja. A elasticidade interfacial aumentou com o aumento da concentração de fosfolipídeos obtidos do abacate e os derivados da soja, porém a alteração na concentração dos fosfolipídeos da soja teve maior influência na reologia interfacial, que para os fosfolipídeos do abacate. Nas análises termogravimétricas, verificou-se que junto com os fosfolipídeos do abacate encontram-se impurezas, com temperatura de degradação diferente do óleo e do próprio fosfolipídeo, distinto do fosfolipídeo da soja, que passou pelo processo de purificação. A temperatura de degradação térmica dos fosfolipídeos encontra-se entre 350 e 500 °C.

CAPÍTULO V
UTILIZAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS DO ABACATE EM EMULSÕES

RESUMO

A busca por produtos naturais está cada vez maior, e uma opção aos tensoativos sintéticos são os fosfolipídeos de fontes vegetais. A fração lipídica do abacate, assim como de outros óleos, é uma fonte natural de fosfolipídeos. Com base nessas informações, o objetivo deste trabalho foi elaborar emulsões com os fosfolipídeos extraídos do óleo de abacate e caracterizar as emulsões formadas com esse produto. Inicialmente foram preparadas emulsões com diferentes concentrações de fase oleosa e aquosa, todas contendo 1 % (m/v) de fosfolipídeos na fase oleosa, sendo avaliados parâmetros de condutividade, estabilidade e característica microscópica. A partir dos resultados obtidos foi escolhida a concentração de 60 % de fase oleosa para os testes seguintes. Emulsões foram então preparadas com diferentes concentrações de fosfolipídeos (1 e 2 % m/v) e pHs (3 e 7), e realizadas análises de distribuição de tamanho de gotas, estabilidade e comportamento reológico. Nos testes iniciais observou-se que as emulsões com até 60 % (v/v) de fase oleosa foram do tipo O/A, enquanto a emulsão preparada com 70 % (v/v) foi do tipo A/O, ou seja, o intervalo de inversão de fases está entre essas concentrações. As emulsões com 50 e 60 % (v/v) de fase oleosa foram as que apresentaram maior estabilidade. O principal mecanismo de instabilidade presente nas emulsões foi o *creaming*. Entre as emulsões preparadas em diferentes pH e diferentes concentrações de fosfolipídeos, verificou-se que a concentração de emulsificante apresenta maior influência na estabilidade e tamanho de gota do que o pH. A emulsão com pH 3 e 1 % de fosfolipídeo foi do tipo A/O, enquanto as demais do tipo O/A. O comportamento reológico das duas emulsões avaliadas com 50 % de fase oleosa, ambas com 2 % de fosfolipídeos, porém uma com pH 3 e outra com 7, são fluidos pseudoplásticos, com tensão inicial próxima a zero. Na varredura de frequência, observou-se que ambas tem o comportamento de gel, ou seja caráter elástico superior ao caráter viscoso na faixa de frequência analisada. Conclui-se que o fosfolipídeo extraído da fração lipídica de abacate pode ser utilizado no preparo de emulsões.

5.1 INTRODUÇÃO

As emulsões apresentam, além das fases aquosa e oleosa, a fase intermediária. Esta é composta pelos tensoativos, ou emulsificantes, que atuam diminuindo a tensão interfacial, aumentando assim a estabilidade das emulsões.

Na fração lipídica do abacate são encontrados, entre outros compostos, os fosfolípidos. Entre os principais fosfolípidos (PL) estão a fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI), ácido fosfatídico (PA), fosfatidilglicerol (PG), lisofosfatidilcolina (LPC). Eles são constituintes naturais e por apresentarem uma longa cadeia apolar e uma região polar em sua molécula, possuem propriedades emulsificantes. (DAMODARAN, PARKIN, FENEMA, 2010; SZUHAJ, 1989; XU et al., 2011).

Na indústria do óleo de abacate, normalmente é realizada a extração enzimática, e os fosfolípidos são descartados junto com a torta. A recuperação de emulsificantes naturais, como os fosfolípidos do abacate, em substituição aos sintéticos, é uma opção que pode agregar valor à cadeia produtiva do óleo.

O emulsificante irá influenciar nas propriedades da emulsão formada, assim como outros fatores, como concentração e constituição das fases aquosa e oleosa, equipamento utilizado no preparo, tempo de preparo. Desta forma, é necessário avaliar quais as características da emulsão formada, quanto ao tipo, A/O ou, O/A, ao comportamento ao longo do tempo e ao aspecto visual. Neste capítulo é avaliada a utilização dos fosfolípidos extraídos do óleo da polpa de abacates da variedade ‘Margarida’ para o preparo de emulsões em diferentes concentrações de fases e diferentes pHs, e analisadas algumas características das emulsões formadas, como: estabilidade, condutividade, tamanho de gota e comportamento reológico.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 MATERIAIS

As emulsões foram preparadas utilizando óleo de soja refinado comercial. A fase aquosa preparada foi água destilada com 1 % (m/v) de NaCl, e adição de soluções NaOH (0,275 N) e HCl (0,325 N) para ajuste de pH (3 e 7). Os fosfolípidos do abacate foram

obtidos conforme metodologia de Vianna; Pires; Viana (1999) modificada, descrita detalhadamente na Seção 4.2.2.1 deste trabalho.

5.2.2 PREPARO DAS EMULSÕES

Todas as emulsões foram preparadas em homogeneizador Polytron PT3100 D (Kinematica AG, Suíça) a 10.000 rpm, por três minutos. Estes parâmetros foram escolhidos de acordo com resultados de testes preliminares, onde observou-se pouca influência em tempos superiores a três minutos na distribuição de tamanho de gotas das emulsões formadas.

Inicialmente foram preparadas emulsões com concentração de fase oleosa variando de 20 a 70 % (v/v). Na fase oleosa foi adicionado 1 % (m/v) de fosfolipídeos do abacate. Logo após adição a mistura (óleo+fosfolipídeos) ficou sob agitação magnética por 60 minutos a 60 °C, para completa homogeneização. A fase aquosa consistiu de água destilada com 1 % (m/v) de NaCl para que se pudesse realizar a determinação do tipo de emulsão pela medida da condutividade (item 5.2.3.2), com pH $7,0 \pm 0,2$. Estas emulsões foram analisadas em relação à estabilidade (item 5.2.2.2), à condutividade (item 5.2.2.3) e à característica microscópica (item 5.2.2.4). Com os resultados obtidos foi escolhida a concentração de fase oleosa para o preparo das demais emulsões.

Em seguida foram preparadas emulsões contendo óleo de soja, soluções aquosas com 1 % (m/v) de NaCl e fosfolipídeos de abacate, em diferentes pH e diferentes concentrações de fosfolipídeos, conforme delineamento experimental 2^2 , ou seja, com dois fatores (pH e concentração de fosfolipídeos) e dois níveis (pH de 3,0 e 7,0, e concentração de fosfolipídeos de 1,0 e 2,0 % (m/v)) apresentado na Tabela 5.1.

TABELA 5.1 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA O PREPARO DAS EMULSÕES .

Condição	pH	Concentração de Fosfolipídeos
1	$7,0 \pm 0,2$	2,0 % (m/v)
2	$7,0 \pm 0,2$	1,0 % (m/v)
3	$3,0 \pm 0,2$	2,0 % (m/v)
4	$3,0 \pm 0,2$	1,0 % (m/v)

Estes valores de pH foram escolhidos por 7,0 ser o pH neutro, encontrado em alguns alimentos emulsionados, como produtos lácteos não fermentados e não acidificados. O pH 3,0 foi escolhido devido a diversos alimentos apresentarem pH ácido, como sucos de algumas frutas, refrigerantes, frituras, entre outros.

Nesta segunda parte, foram preparadas emulsões O/A com 50 % (v/v) de fase interna. As emulsões formadas foram avaliadas em relação à estabilidade (item 5.2.2.2), aspecto microscópico e distribuição de tamanho de gotas (DSD) (item 5.2.2.4) e comportamento reológico (item 5.2.2.5). Nas análises de comportamento reológico foram analisadas as emulsões estáveis, sem separação das fases uma hora após o preparo.

5.2.3 ANÁLISE DAS EMULSÕES

5.2.3.1 Estabilidade

A estabilidade foi verificada por análise visual da separação de fases em tubos de centrífuga cônicos graduados, com 10 mL de emulsão, conforme metodologia encontrada em Züge et al. (2013). As emulsões foram mantidas em temperaturas controladas de 25 °C, por períodos de tempo de 10, 20, 30 e 60 minutos. Foram avaliados a aparência da emulsão e o volume de cada fase separada. Esta análise foi realizada em triplicata. Foi aplicado o Teste de Tukey para verificar diferença significativa entre as amostras, ao nível de 5 %.

5.2.3.2 Determinação do tipo de emulsão e intervalo de inversão de fase por condutividade

A determinação da condutividade foi realizada em condutímetro Shoot Lab 970 (SI Analytics GmbH, Alemanha). A análise de condutividade é realizada para determinar o tipo de emulsão, A/O ou O/A. Quando a emulsão apresenta condutividade baixa, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, a emulsão é A/O, caso contrário, quando a condutividade é próxima ou superior a 1 mS/cm, a emulsão se apresenta como O/A.

O intervalo de inversão foi determinado pela fração de fases onde a emulsão passa de O/A para A/O, conforme metodologia apresentada por Züge et al. (2013).

5.2.3.3 Análise microscópica e Distribuição do Tamanho de Gota (DSD)

A análise de microscopia ótica foi realizada utilizando um microscópio invertido Zeiss Observer D1 (Zeiss Vision GmbH, Alemanha), com captura de imagem, e o software Axio Vision. As emulsões estáveis foram analisadas logo após preparo e em 24 horas. As análises foram realizadas com aproximação de 1008 X.

A análise DSD foi realizada de acordo com Züge et al. (2013), com a realização de três micrografias para cada tratamento.

5.2.3.4 Comportamento reológico

As emulsões dos tratamentos apresentados na Tabela 5.1 que apresentaram estabilidade superior a uma hora, foram analisados utilizando o reômetro Mars II (Thermo Electron GmbH, Alemanha), cone-placa, com cone de 6 mm. Para a obtenção das curvas de fluxo a taxa de cisalhamento variou entre 0,1 a 500 s⁻¹, com aquisição de 100 pontos, em triplicata, a 25°C.

Os modelos de Ostwald-de Waele (Eq. 5.1) e Herschel-Bulkley (Eq. 5.2) foram ajustados aos dados.

$$\tau = k_{lp}(\dot{\gamma})^n \quad (5.1)$$

$$\tau = \tau_0 + k_{hb}(\dot{\gamma})^n \quad (5.2)$$

Onde: τ é a tensão de cisalhamento, τ_0 é a tensão inicial, k é o índice de comportamento, $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento e n é o índice de comportamento.

Para as análises dos espectros mecânicos (módulos G' e G'' em função da frequência) foi realizada uma varredura de tensão na faixa de 0,1 a 100 Pa à frequência de 1 Hz com o objetivo de determinar a região viscoelástica. Em seguida, foram realizados os ensaios de varredura de frequência, na faixa de 0,1 a 10 Hz, na temperatura de 25 °C.

5.2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados pela análise de variância com $p \leq 0,05$. As diferenças significativas entre as médias foram analisadas pelo teste de Tukey no mesmo nível de significância. O software Statistica 10.0 foi utilizado para a realização dos cálculos.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 EMULSÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASES

As emulsões preparadas com diferentes concentrações de fase oleosa apresentaram os valores de condutividade presentes na Figura 5.1. Com estes resultados é possível observar

que as emulsões com 20, 30, 40, 50 e 60 % (v/v) de fase oleosa foram do tipo O/A, enquanto a com 70 % foi do tipo A/O.

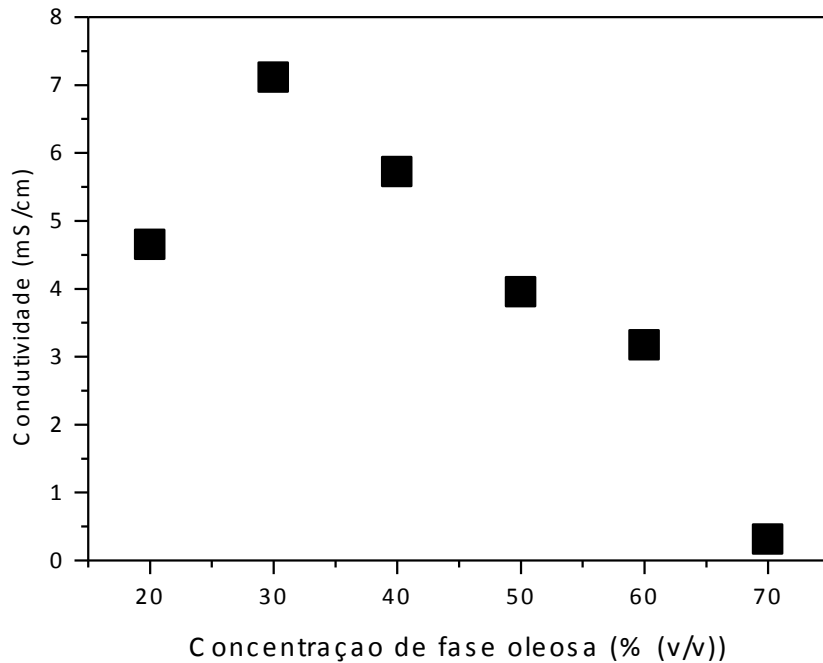


FIGURA 5.1 – MEDIDAS DE CONDUTIVIDADE DE EMULSÕES PREPARADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA, UTILIZANDO O FOSFOLIPÍDEO DO ABACATE.

Emulsões em que a fase externa é a água apresentam alta condutividade, que é o caso das emulsões até 60 % (v/v), enquanto que quando a fase oleosa é a fase externa, apresentam valores de condutividade abaixo de 1,0 mS/cm (Emulsão com 70 % (v/v) de fase oleosa). O aumento da condutividade entre as emulsões de 20 e 30 % (v/v) de fase oleosa, pode estar relacionado ao fato da baixa estabilidade das emulsões com menores concentrações de fase oleosa, o que, conseqüentemente, pode ocasionar maiores erros na determinação destes valores. Mesmo assim, os valores de condutividade para emulsão com 20 % (v/v) de fase oleosa, foram bem acima de 1 mS/cm, caracterizando uma emulsão com água como fase contínua. A Figura 5.2 apresenta foto das emulsões preparadas nas 6 concentrações de fase. Pelas imagens também é possível notar a diferença na coloração para emulsões O/A e a emulsão A/O.

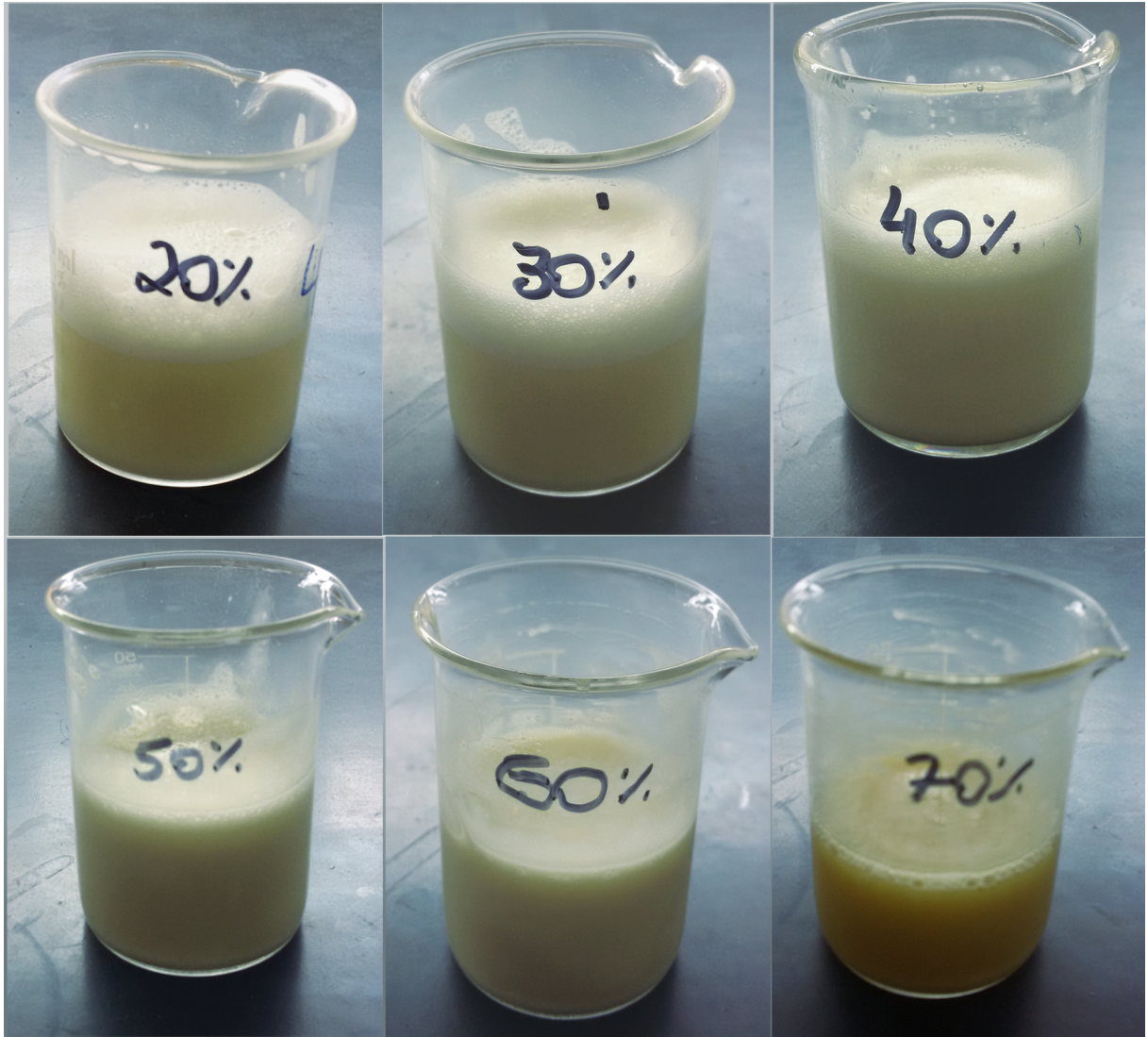


FIGURA 5.2 – FOTO DAS EMULSÕES PREPARADAS COM 1 % (m/v) DE FOSFOLÍPÍDEOS DE ABACATE, COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA (20, 30, 40, 50, 60 E 70 % v/v) EM pH 7,0.

Enquanto as emulsões com a água como fase externa apresentam coloração mais clara, a emulsão que apresenta óleo como fase externa tem coloração amarela mais escura. A coloração da fase oleosa irá influenciar na coloração da emulsão, principalmente em emulsões A/O, onde o óleo é a fase externa. Com a adição dos fosfolípídeos do abacate na fase oleosa, esta adquire uma coloração amarela escura, assim, quando o óleo é a fase externa a cor da emulsão final fica mais acentuada.

Outra característica que pôde ser observada com estes experimentos, foi que nas condições de pH 7,0, com fase oleosa contendo 1 % (m/v) NaCl, utilizando óleo de soja como fase oleosa e como emulsificante fosfolípídeos de abacate o intervalo de inversão estática, de O/A para A/O, é entre 60 a 70 % (v/v) de fase oleosa. No estudo realizado por Thakur et al. (2008), o ponto de inversão dinâmico para emulsões com óleo de girassol e fosfolípídeos de

ovo foi com 71,5 % (v/v) de fase oleosa, valor bem próximo ao encontrado no presente trabalho. É esperado que o volume de inversão de fases seja próximo a 74 %, que é o valor de empacotamento crítico de esferas monodispersas (SCHRAMM, 1992). Além disso a presença de emulsão múltipla influenciará no valor, pois o volume de fase aquosa externa diminui com o aumento de gotas de água no interior das gotas de óleo.

Na Figura 5.2, também foi possível observar a formação de espuma, principalmente nas emulsões com menor quantidade de fase oleosa (20 e 30 % (v/v)). A espuma é a fixação de bolhas de gás, muitas vezes o ar, em uma fase contínua líquida. Os emulsificantes atuam muitas vezes como agentes espumantes, aumentando a estabilidade das espumas após formação, portanto, o fosfolipídeo do abacate presente pode ter auxiliado na formação e estabilidade da espuma formada nessas emulsões, assim como outros componentes. A formação de espuma é desejada em alguns produtos, incluindo algumas bebidas, massas, entre outros, porém é indesejada em outros.

A estabilidade das emulsões varia com as diferentes concentrações de fase oleosa. Com os experimentos, foi possível notar que, com o aumento da concentração da fase oleosa, a estabilidade aumenta até a inversão da emulsão. Quando a emulsão inverte sua estabilidade diminui, e ocorre a separação de fases logo após a formação. Os resultados obtidos para estabilidade são apresentados na Tabela 5.2.

TABELA 5.2 – ESTABILIDADE DAS EMULSÕES PREPARADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA, COM 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE.

Concentração de Fase Oleosa	Volume Separado (mL/10mL)				
	Após Preparo	10 minutos	20 minutos	30 minutos	60 minutos
20 % (v/v)	svs ^a	1,95±0,21 ^a	4,70±0,27 ^a	6,65±1,77 ^a	7,25±1,06 ^a
30 % (v/v)	svs ^a	1,30±0,14 ^b	2,55±0,21 ^b	3,35±0,07 ^b	3,53±0,11 ^b
40 % (v/v)	svs ^a	0,65±0,07 ^c	1,15±0,07 ^c	1,55±0,07 ^c	1,70±0,14 ^c
50 % (v/v)	svs ^a	svs ^c	0,10±0,00 ^{cd}	0,10±0,00 ^{cd}	0,10±0,00 ^d
60 % (v/v)	svs ^a	svs ^c	svs ^d	svs ^d	svs ^d
70 % (v/v)	inversa	inversa	inversa	inversa	inversa

Nota: svs – sem volume separado visível (volume separado de 0,00±0,00); inversa – volume mesclado sem distinção nítida de fases (não avaliada pelo teste de Tukey).

Letras sobrescrita diferentes, em uma mesma coluna, representam diferença estatística no nível de 5 %, pelo teste de Tukey, entre as diferentes concentrações de fase oleosa.

A concentração de 60 % (v/v) de fase oleosa formou emulsões mais estáveis nas condições testadas, porém não apresentou diferença estatística de separação de fases das amostras com 50 % (v/v) de fase oleosa, durante todo o tempo analisado. A emulsão com 40 % (v/v) de fase oleosa apresentou, a partir de 20 minutos após o preparo, diferença estatística na separação de fases, em relação à condição com 60 % (v/v) de fase oleosa. As emulsões com 30 e 20 % (v/v) de fase oleosa em 10 minutos após preparo já apresentaram

separação de fases estatisticamente maior que as demais emulsões. Com base nos resultados de estabilidade foi escolhida a concentração de 50 % (v/v) para realização dos teste em diferentes pH e concentrações de fosfolipídeo.

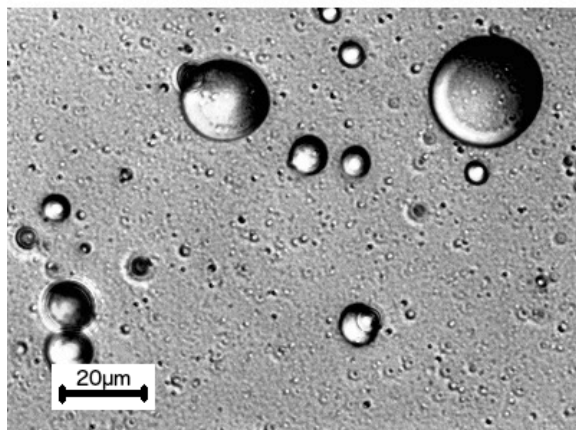
Como visto anteriormente, na concentração de 70 % ocorre a inversão de fases, e a emulsão formada é do tipo A/O. As emulsões A/O, apresentam diferenças também em relação à estabilidade, há a separação de fases, porém a fase que está separando fica mesclada com a fase contínua da emulsão, não sendo possível mensurar o volume separado visualmente.

Nas microscopias obtidas também é possível perceber a diferença nas características entre as emulsões O/A e a emulsão A/O, apresentadas nas Figuras 5.3 e 5.4. Nestas micrografias verifica-se a presença de emulsões múltiplas, ou seja, emulsões onde há uma fase interna água nas gotas de óleo. Isto ocorre principalmente na emulsão com 60 % de fase oleosa. As emulsões múltiplas são empregadas em sistemas de encapsulamento, proteção e liberação de compostos bioativos, e na redução do conteúdo lipídico em emulsões (McCLEMENTS et al. 2007). Neste trabalho não houve a encapsulação intencional de compostos. Ocorre porém a diminuição de fase contínua aquosa da emulsão externa, pela presença de gotas internas da fase aquosa. A quantidade de gotas da emulsão interna irá influenciar, portanto, no intervalo de inversão, como citado anteriormente, pois altera a fração de volume de fases, diminuindo a fração de fase contínua aquosa presente na emulsão externa.

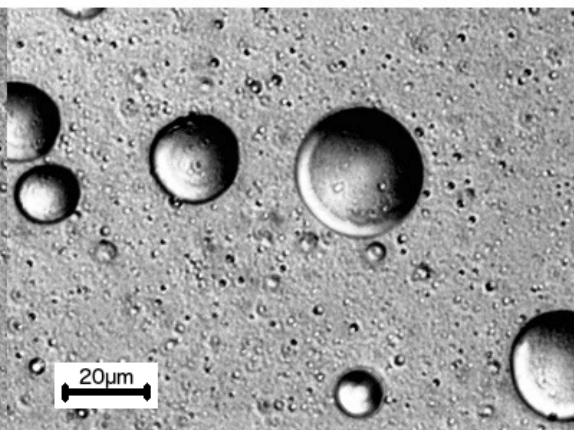
A distribuição de tamanho de gotas das emulsões com diferentes concentrações de fase oleosa é apresentada na Figura 5.5. Nota-se que não há uma diferença significativa nos tamanhos de gotas, nas emulsões logo após o preparo e após 24 horas. Além disso, todas as concentrações apresentam maior proporção de gotas menores abaixo de 10 μm , porém com a presença de gotas grandes, acima de 10 μm .

Relacionando a estabilidade com a distribuição de tamanho de gotas, verifica-se que provavelmente o mecanismo de instabilidade apresentado é o *creaming*, ou seja, nas concentrações mais baixas de fase oleosa, esta, por ser menos densa, as gotas sobem, separando uma fase aquosa na parte inferior e a emulsão na parte superior. Neste caso, mesmo sendo possível a observação de duas fases, as gotas não estão coalescendo, e com uma simples agitação manual da emulsão, ela volta a ter as mesmas características que tinha logo após o preparo, pois as gotas dispersas terão em grande parte o mesmo tamanho ao longo do tempo. As emulsões com menor fração de fase dispersa irão apresentar maior tendência a instabilidade por *creaming*, fato este que foi observado e apresentado na Tabela 5.2, onde pode ser observado que a emulsão com 20 % (v/v) de fase oleosa apresentou volume de separação de $7,25 \pm 1,06$ mL/10 mL, 60 minutos após preparo.

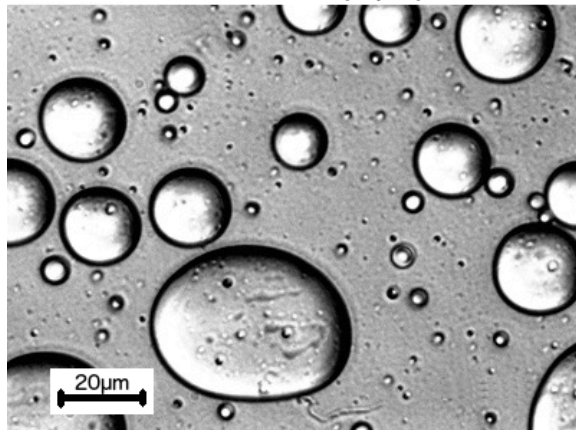
20 % de fase oleosa (O/A)



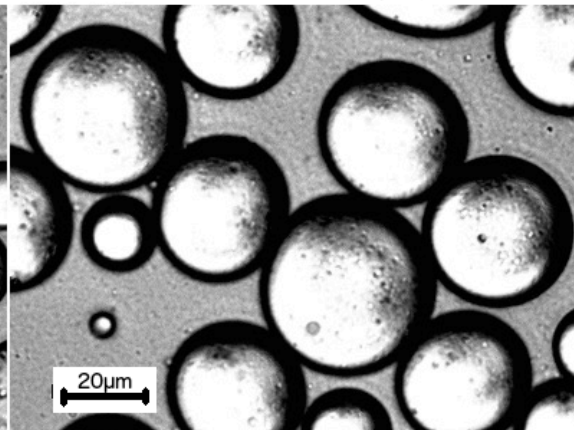
30 % de fase oleosa (O/A)



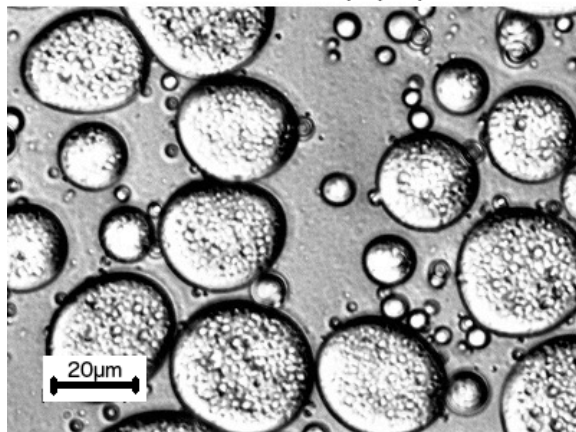
40 % de fase oleosa (O/A)



50 % de fase oleosa (O/A)



60 % de fase oleosa (O/A)



70 % de fase oleosa (A/O)

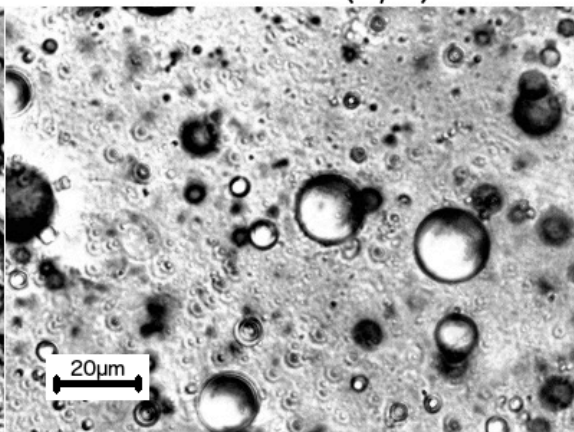


FIGURA 5.3 – MICROSCOPIAS ÓPTICAS OBTIDAS COM APROXIMAÇÃO DE 1008X, LOGO APÓS O PREPARO DE EMULSÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA (20, 30, 40, 50, 60 E 70 % v/v), COM 1 % (m/v) DE FOSFOLÍPÍDEOS DE ABACATE EM pH 7,0, PREPARADAS COM AGITAÇÃO DE 10.000 RPM POR 3 MINUTOS.

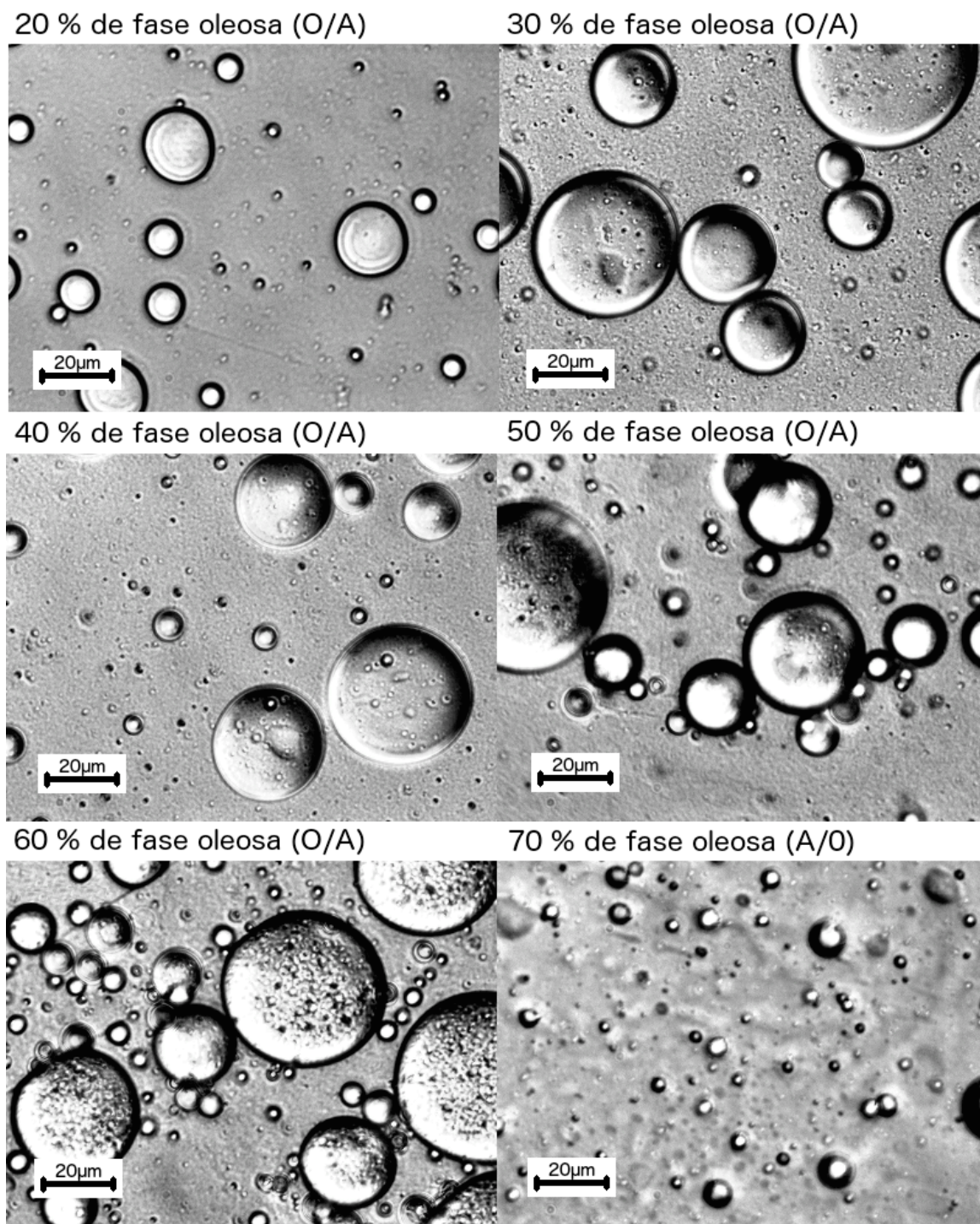
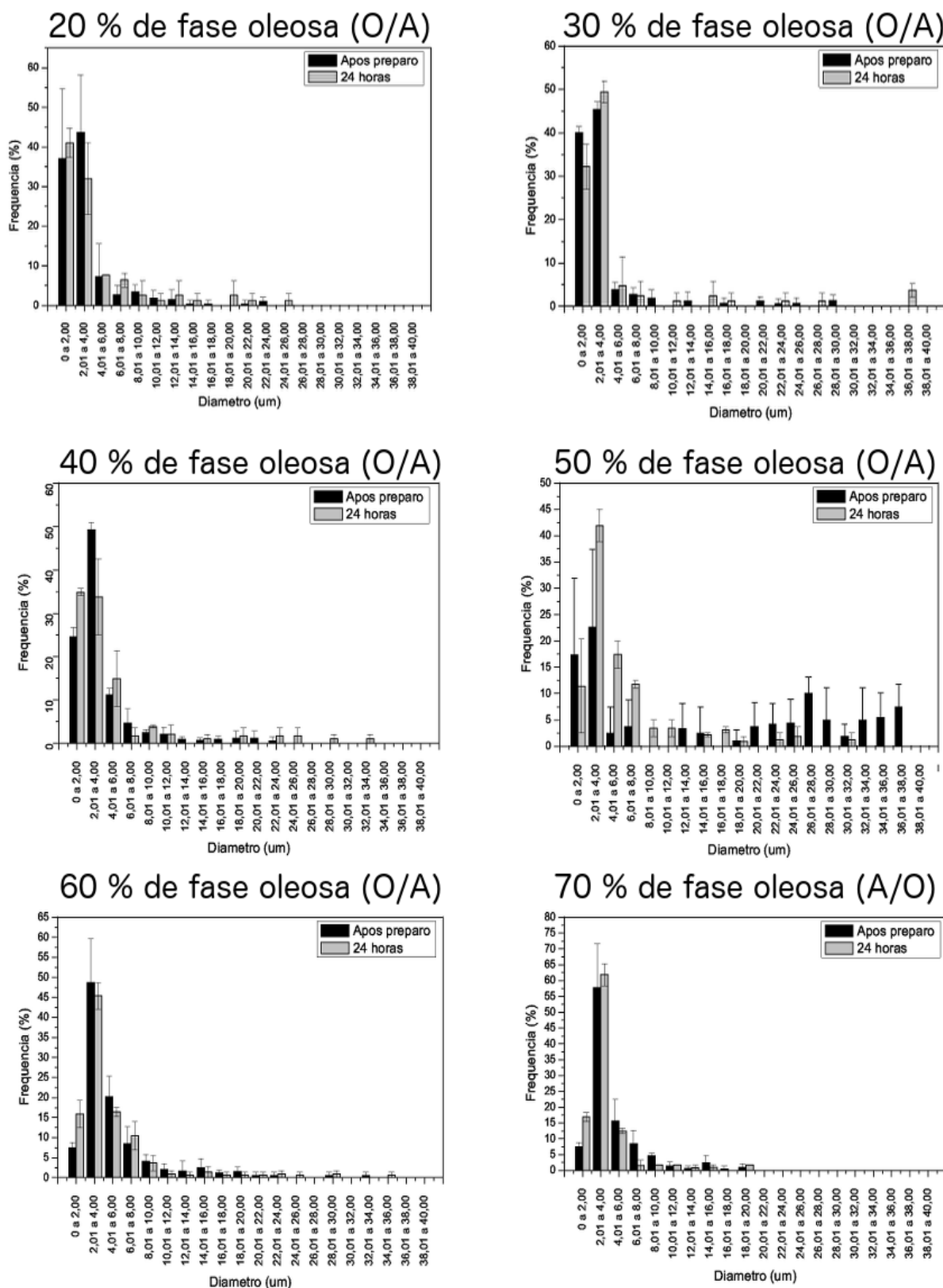


FIGURA 5.4 – MICROSCOPIAS ÓPTICAS OBTIDAS COM APROXIMAÇÃO DE 1008X, 24 HORAS APÓS O PREPARO DE EMULSÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FASE OLEOSA (20, 30, 40, 50, 60 E 70 % v/v), COM 1 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE, PREPARADAS COM AGITAÇÃO DE 10.000 RPM POR 3 MINUTOS.



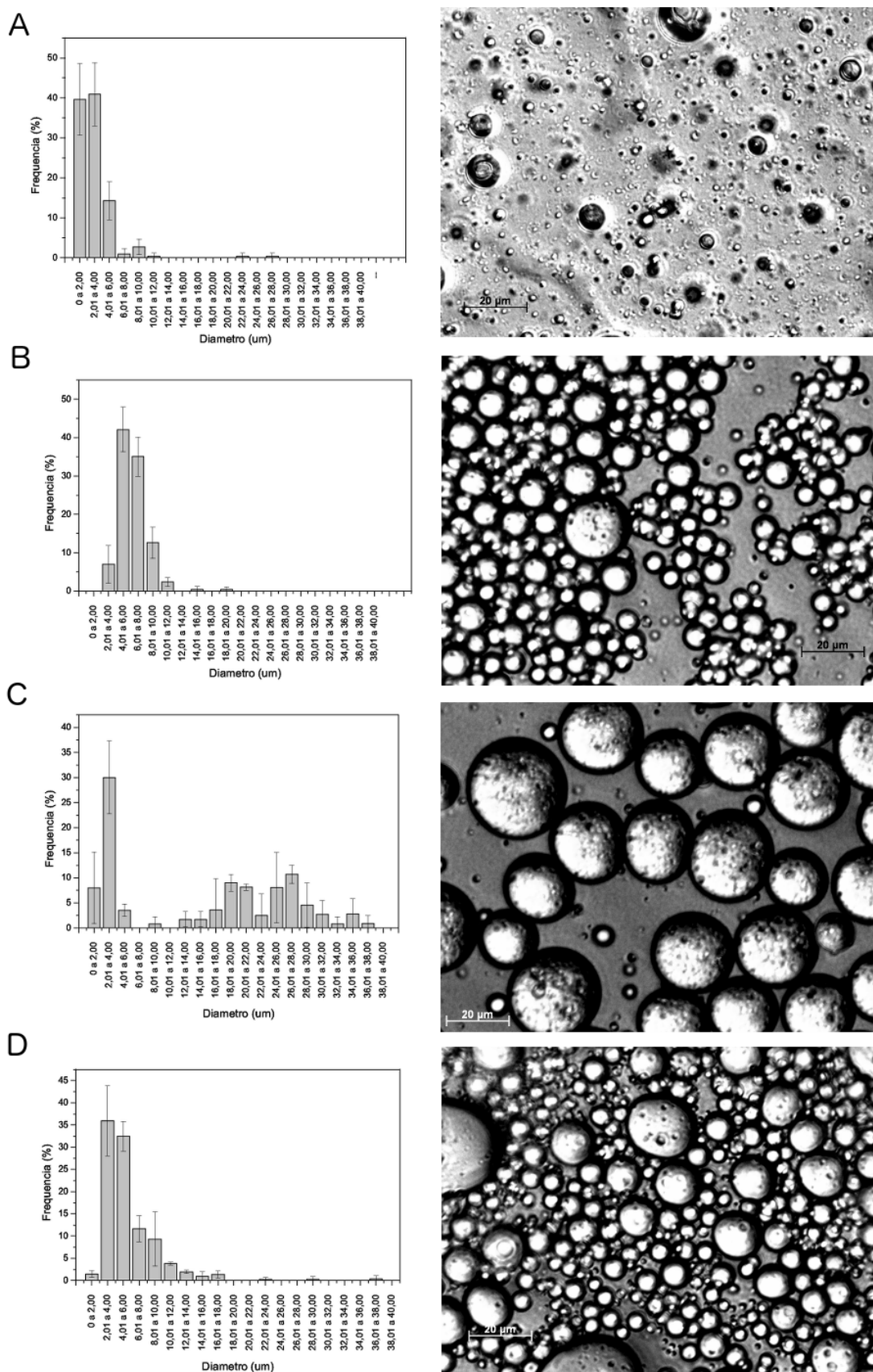
5.3.2 EMULSÕES COM DIFERENTES pH E CONCENTRAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEOS

Diferentes pH foram utilizados no preparo das emulsões com os fosfolipídeos de abacate para verificar o efeito do pH na estabilidade, distribuição de tamanho de gotas e comportamento reológico nessas emulsões.

Nestas emulsões formadas, com teste de estabilidade verificou-se que com 1 % (m/v) de fosfolipídeos houve a separação média de 0,12 mL/10 mL para emulsões com 50 % de fase oleosa e pH 7, após uma hora. Na emulsão com pH 3 e 1 % (m/v) de fosfolipídeos ocorreu a inversão de fases, ou seja, a formação de uma emulsão A/O, e para esta não foi possível quantificar a separação de fases, pois o volume separado fica mesclado com a emulsão, não sendo possível mensurá-lo visualmente. As emulsões preparadas com 2 % (m/v) de fosfolipídeos de abacate e 50 % (v/v) de fase oleosa, nos pH 3 e 7, não apresentaram separação de fases em até uma hora após o preparo, devido a isto, estas emulsões foram escolhidas para realização das análises de comportamento reológico.

Como não houve diferença significativa, para separação de fases, entre os pH 3 e 7, para a concentração de 2 % (m/v) de fosfolipídeo, pode-se dizer que os fosfolipídeos do abacate podem ser utilizados em produtos alimentícios com baixo pH. Grande parte dos produtos alimentícios possuem pH ácido (abaixo de 7), entre eles estão grande partes das frutas e sucos de frutas, molhos de salada, bebidas, entre outros (RANKER; KILL; BAKER, 1997). Por esse motivo, a utilização de um produto que forme emulsões estáveis, mesmo em pH ácidos, como é o caso da emulsão preparada em pH 3, é interessante para a indústria de alimentos.

Em seguida são apresentadas na Figura 5.6 as microscopias das emulsões formadas com 1 e 2 % (m/v) de fosfolipídeos do abacate, nos pHs 3 e 7.



Pela distribuição de tamanhos de gotas e pelas microscopias da Figura 5.6 (A), observa-se que a emulsão com 1 % (m/v) de fosfolipídeos e pH 3, que é uma emulsão do tipo A/O, tem características microscópicas diferentes das demais O/A (Figura 5.6B, C e D), além disso a emulsão A/O apresenta gotas pequenas, acima de 80 % das gotas com tamanho inferior a 4 μm . Mesmo essa emulsão A/O tendo a distribuição de tamanho de gotas apresentada acima, com distribuição uniforme e gotas pequenas, a separação de fases inicia-se logo após o término do preparo.

As emulsões do tipo O/A, com 2 % (m/v) de fosfolipídeos apresentaram a mesma estabilidade nos dois pH testados e distribuição de tamanho de gotas parecidas, com maior concentração de gotas com diâmetro entre 2 e 10 μm . A emulsão com menor concentração de fosfolipídeos e pH 7, foi do tipo O/A, (Figura 5.6C) e apresentou uma distribuição de tamanho de gotas menos uniforme, com presença de gotas grandes (entre 16 e 34 μm). A presença de gotas maiores na emulsão com pH 7 e 1 % (m/v) de fosfolipídeos influencia na sua estabilidade.

O comportamento reológico das emulsões foi analisada apenas para as emulsões com 2 % (m/v) de fosfolipídeos de abacate, pois estas apresentaram estabilidade superior a uma hora. A Figura 5.7A apresenta as curvas de viscosidade das emulsões preparadas com 50 % (v/v) de fase interna nos pH 3 e 7. Na Figura 5.7B são apresentadas as curvas de fluxo das emulsões citadas. As varreduras de frequências para estas duas amostras estão apresentadas na Figura 5.7C.

A Tabela 5.3 apresenta os parâmetros reológicos dos ajustes dos modelos de Ostwald-de Waele e Herschel-Bulkley aos dados da curva de fluxo.

TABELA 5.3 – DESCRIÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS EMULSÕES PREPARADAS COM 2 % (m/v) DE FOSFOLIPÍDEOS DE ABACATE, NOS pH 3 e 7, PELA EQUAÇÃO DE OSTWALD-de WAELE E HERSCHEL-BULKLEY.

<i>Ostwald-de Waele</i>	K		n	R²	SQR
pH 3 – 2%	2,1253±0,0448		0,3514±0,0041	0,9844	0,1926
pH 7 – 2%	4,1655±0,0693		0,3092±0,0034	0,9854	0,4001
<i>Herschel-Bulkley</i>	τ_0	k	n	R²	SQR
pH 3 – 2%	0,0218±0,1616	2,1086±0,1317	0,3525±0,0097	0,9844	0,1945
pH 7 – 2%	0,2699±0,2732	3,9381±0,2359	0,3174±0,0091	0,9854	0,4006

Nota: τ_0 : tensão inicial k: índice de consistência; n: índice de comportamento; SQR: soma dos quadrados dos resíduos.

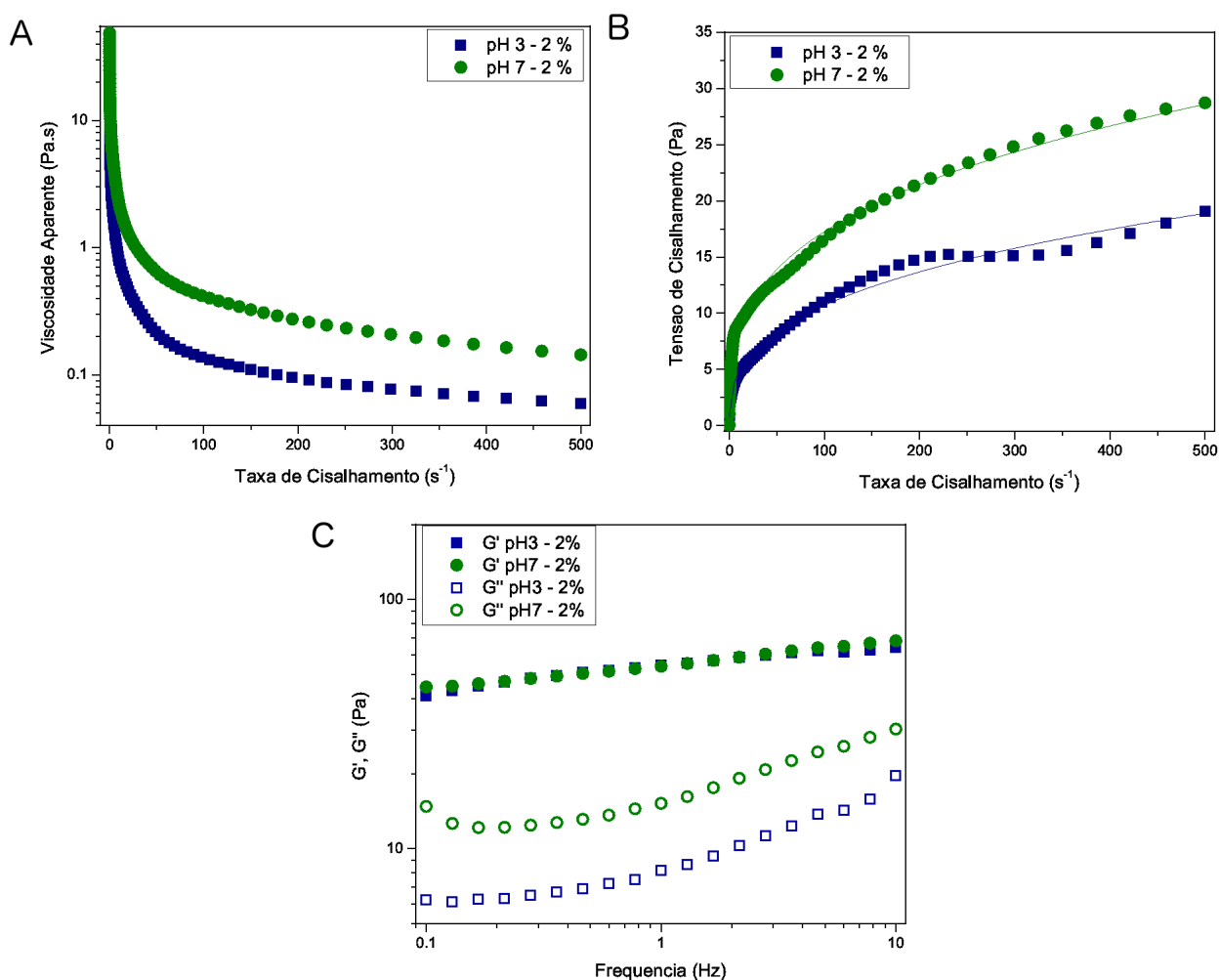


FIGURA 5.7 – (A) CURVAS DE VISCOSIDADE, (B) CURVAS DE FLUXO, COM AJUSTE DO MODELO DE OSTWALD-DE WAELE, E (C) VARREDURAS DE FREQUENCIA PARA EMULSÕES O/A PREPARADAS COM 2 % (m/v) DE FOSFOLÍPÍDEOS DE ABACATE E 50 % DE FASE OLEOSA, NOS pHs 3 E 7.

Os dois modelos utilizados tiveram um bom ajuste aos dados experimentais, com R^2 superior a 0,9844, e SQR abaixo de 0,4006. O valor da tensão inicial pelo modelo de Herschel-Bulkley pode ser desconsiderado, uma vez que o erro é maior que o valor do parâmetro. Desta forma, o modelo de Ostwald-de Waele se ajusta melhor aos dados, além disso possui valores de SQR menores, mesmo com valores de R^2 iguais para ambos os modelos.

As duas condições estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico com índice de comportamento (n) inferior a 1. Este é o comportamento mais encontrado em emulsões alimentícias (McCLEMENTS, 1999), e é descrito por alguns autores para emulsões contendo fosfolípidos de soja, entre eles Züge et al. (2013) e Arnold et al. (2013).

O índice de consistência k , possui uma relação com as viscosidades das amostras. As emulsões com pH 7 foram as que tiveram o maior índice de consistência e também maiores valores de viscosidade aparente para uma mesma taxa de cisalhamento.

A partir da varredura de frequência, presente na Figura 5.7C, verifica-se que as emulsões apresentam comportamento de gel, com o módulo elástico, G' , superior ao módulo viscoso, G'' , em toda a faixa de frequência analisada, para as emulsões nos dois pHs. Em emulsões isto também indica que elas possuem forças interativas intermoleculares fortes. Este mesmo comportamento foi encontrado por Züge et al. (2013), para emulsões preparadas com fosfolipídeos da soja.

5.4 CONCLUSÕES

Os fosfolipídeos extraídos do óleo de abacate são capazes de formar emulsões e manter a estabilidade das emulsões formadas. As emulsões preparadas com 1 % (m/v) de fosfolipídeos apresentaram intervalo de inversão entre 60 e 70 % (v/v) de fase oleosa, e as emulsões nesta condição de maior estabilidade foram as O/A de 50 e 60 % (v/v) de fase dispersa. Nos experimentos em diferentes pH e concentrações de fosfolipídeos, observou-se que o pH tem pouca influencia na estabilidade e no tamanho de gota das emulsões com 50 % (v/v) de fase oleosa, enquanto isso, o aumento da concentração de fosfolipídeos diminuiu o tamanho de gota e formou emulsões mais estáveis. Em relação ao comportamento reológico, as emulsões com 2 % (m/v) de fosfolipídeos e pH 3 e 7 apresentaram comportamento pseudoplástico, sem tensão inicial. Além disso, as emulsões preparadas com fosfolipídeos da fração lipídica do abacate, possuem comportamento viscoelástico, com característica de gel, ou seja com caráter elástico maior que viscoso em toda a faixa de frequência analisada.

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

Com os resultados obtidos neste trabalho algumas conclusões que puderam ser feitas foram:

- O abacate é um fruto com alto teor de lipídeos, e com base nos preços e variedades oferecidas no CEASA Curitiba, a variedade Margarida é uma opção para a extração deste óleo, o qual tem alto valor agregado;
- A extração, bem como a variedade do abacate, influencia nas características físico-químicas, como viscosidade, densidade e comportamento térmico, e de composição apresentadas na fração lipídica do abacate;
- A extração utilizando uma mistura de clorofórmio:metanol seguida de acetona foi a que obteve maior concentração de fosfolipídeos (0,57 g por 100 g de polpa seca);
- Os fosfolipídeos estão presentes na fração lipídica do abacate da variedade Margarida, e devido às suas características estruturais, possuem atividades interfaciais, ou seja, diminuem a tensão entre fases óleo e água, podendo ser utilizados em emulsões, para aumento da estabilidade;
- O comportamento interfacial dos fosfolipídeos do abacate é similar ao dos fosfolipídeos da soja, os quais são amplamente utilizados pela indústria de alimentos;
- As emulsões O/A produzidas utilizando os fosfolipídeos extraídos do abacate são estáveis em diferentes pH (pH 3,0 e 7,0), e apresentam comportamento reológico pseudoplástico, com característica de gel;
- O estudo da fração lipídica do abacate é importante para agregar valor a sua cadeia produtiva e com isso minimizar o descarte de constituintes de alto valor agregado e que apresentam características nutricionais, como é o caso dos fosfolipídeos.

REFERÊNCIAS

- AMINE, C. et al. Investigation of emulsifying properties and emulsion stability of plant and milk proteins using interfacial tension and interfacial elasticity. *Food Hydrocolloids*, v. 39, p. 180-186, 2014.
- ANTON, N; VANDAMME, T. F. Nano-emulsions and micro-emulsions: Clarifications of the critical differences. *Pharm. Res.*, v. 28, p. 978-985, 2011.
- AOCS - OFFICIAL METHODS AND RECOMMENDED PRACTICES OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. Método Ce 2-66. GLC ranges of fatty acid composition. Champaign, USA: AOCS Press, 1997.
- AOCS - OFFICIAL METHODS AND RECOMMENDED PRACTICES OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. Método Ce 1F-96. Champaign, USA: AOCS Press, 1998.
- AOCS - OFFICIAL METHODS AND RECOMMENDED PRACTICES OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. Método Ca 12-55. Phosphorous. Champaign, USA: AOCS Press, 2009.
- ARAÚJO, J. M. A. *Química de alimentos: Teoria e Prática*. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004, 335p.
- ARNOLD, G. et al. The impact of lecithin on rheology, sedimentation and particle interactions in oil-based dispersions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 418, p. 147-156, 2013.
- BAE, E. K; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of Microencapsulation*, v. 25, p. 549-560, 2008.
- BERASATEGI, I. et al. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. *Food Chemistry*, v. 132, p. 439-446, 2012.
- BIRDS, R. B; STEWART, W. E; LIGHTFOOT, E. N. *Transport phenomena*. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2002, 894p.
- BIZIMANA, V., BREENE, W. M., CSALLANY, A. S. Avocado Oil Extraction with appropriate technology for developing countries. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 70, p. 821-822, 1993.
- BOUCHAMA, F. et al. On the mechanism of catastrophic phase inversion in emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 231, p. 11-17, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Normativa no 49, de 22 de dezembro de 2006. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para Óleos Vegetais Refinados. Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, p. 140.

BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução no 492, de 23 de setembro de 1999. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para Óleos Vegetais Refinados. Republicada no Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, p. 82-87.

BROCK, J. et al. Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p. 564-570, 2008.

BRUMMER, R. *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. Berlin: Springer, 2006, 180p.

BUENROSTRO, M., LOPEZ-MUNIZAGA, A. Enzymatic extraction of avocado oil. *Biotechnology Letters*, v. 8, p. 505-506, 1986.

CASSON, N. A flow equation for pigment-oil suspensions of the printing ink type. In: MILL, C. C. *Rheology of disperse suspensions*. New York: Pergamon Press, 1959, pp. 82-104.

COMAS, D. I., WAGNER, J. R., TOMÁS, M. C. Creaming stability of oil in water (O/W) emulsions: Influence of pH on soybean protein–lecithin interaction. *Food Hydrocolloids*, v. 20, p. 990-996, 2006.

CONSTENLA, D. T., LOZANO, J. E., CRAPISTE, G. H. Thermophysical properties of clarified apple juice as a function of concentration and temperature. *Journal of Food Science*, v. 54, p. 663-668, 1989.

CURIEL, M., NEVE, O., PETACH, T. Process for the recovery of oil from avocados fruit. US Patent 4560568, 1985.

DALGLEISH, D. G. Food emulsions—their structures and structure-forming properties. *Food Hydrocolloids*, v. 20, n. 4, p. 415-422, 2006.

DAMODARAN, S; PARKIN, K. L; FENNEMA, O. R. *Química de alimentos de Fennema*. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 900p.

DANIELI, F. *O óleo de abacate (*Persea americana* Mill.) como matéria prima para a indústria alimentícia*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

DING, H. et al. Chemopreventive characteristics of avocado fruit. *Seminars in Cancer Biology*, v. 17, p. 386-394, 2007.

ENCYCLOPEDIA of Foods: A guide to healthy nutrition. San Diego: Academic Press, 2002, 516p.

FAOSTAT Database, *Food and Agricultural Organization*, United Nations, Rome, 2015.

GALVÃO, M. S., NARAIN, N., NIGAM, N. Influence of different cultivars on oil quality and chemical characteristics of avocado fruit. *Food Science and Tecnology*, v. 34, p. 539-546, 2014.

GALLEGOS, C., FRANCO, J. M., PARTAL, P. Rheology os food dispersions. *Rheology Reviews*, p. 19-65, 2004.

GARDIAZABAL, F. *Factores agronómicos a considerar en la implantación de un huerto de paltos*. Seminario Internacional de Paltos, Viña del Mar, 1998.

GOLUKCU, M., OZDEMIR, F. Changes in phenolic composition of avocado cultivars during harvesting time. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 46, p. 112-115, 2010.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Fruit characterization of high oil content avocado varieties. *Scientia Agricola*, v. 59, p. 403-406, 2002.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J. J., et al. Evaluation of composition and performance of composts derived from guacamole production residues. *Journal of Environmental Management*, v. 147, p. 132-139, 2015.

GURR, M. I. Dietary Lipids and coronary heart disease: old evidence, new perspective. *Progress in Lipid Research*, v. 3, p. 195-243, 1992.

GUTFINGER, T., LETAN, A. Studies of unsaponifiables in several vegetable oils. *Lipids*, v. 9, p. 658-663, 1974.

GUTIERREZ, L. E. Comparação de métodos de extração sobre o teor e composição de óleo de abacate (*Persea americana*). *Anais da E. S. A., "Luiz de Queiroz"*, v. 33, p. 85-90, 1976.

HAIYAN, Z., et al. Endogenous biophenol, fatty acid and volatile profiles of selected oils. *Food Chemistry*, v. 100, p. 1544-1551, 2007.

HERALD, P. J., DAVIDSON, P. M. Antibacterial activity of selected hydroxycinnamic acids. *Journal of Food Science*, v. 48, p. 1378-1379, 1983.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4 ed. São Paulo, 2004, 1018 p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/estadosat>>. Acesso em 13 de maio de 2015.

IONASHIRO, M. *Giolito: Fundamentos de termogravimetria, análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. São Paulo: Giz Editorial e Livraria Limitada, 2005, 80p.

JOHANSSON, D., BERGENSTAHL, B. Lecithins in oil-continous emulsion. Fat crystal wetting and interfacial tension. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 72, p. 205-211, 1995.

JORGE, T. S. *Avaliação reológica do óleo de abacate (Persea americana Mill) e estudo da estabilidade sob condições de aquecimento e armazenamento à temperatura ambiente*. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista, São Jose do Rio Preto, 2014.

KNOTHE, G. Avocado and olive oil methyl esters. *Biomass and Bioenergy*, v. 58, p. 143-148, 2013.

LAVENGIN, D., 2000. Influence of interfacial rheology on foam and emulsion properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 88, p. 209-222, 2000.

LEAL-CALDERON, F; SCHMITT, V; BIBETTE J. *Emulsion science: Basics principles*. 2nd ed. New York: Springer, 2007, 225p.

LEAL-CALDERON, F; TRIVILLIERS, F; SCHMITT, V. Structured emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 12, p. 206-212, 2007.

LI, J., et al. A review in phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceuticals Sciences*, v. 10, p. 81-98, 2015.

LIU, D., MA, F. Soybean Phospholipids. In: NG, T. B. *Soybean - Applications and Technology*. India: In Tech, 2011, p. 483-500.

LOGARAJ, T. V. *et al.* Rheological behaviour of emulsions of avocado and watermelon oils during storage. *Food Chemistry*, v. 106, p. 937-943, 2008.

LOZANO, Y. F., et al.. Unsaponifiable matter, total sterol and tocopherol contents of avocado oil varieties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 70, p. 561-565, 1993.

LU, Q. Y., et al. Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: role of lipid-soluble bioactive substances. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 16, p. 23-30, 2005.

MA, L; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Review: rheological properties of food gums and food gum mixtures. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, v.33, p.133-163, 1993.

MASSAFERA, G., COSTA, T. M. B., OLIVEIRA, J. E. D. de. Composição de ácidos graxos do óleo do mesocarpo e da semente de cultivares de abacate (*Persea americana* Mill.) da região de Ribeirão Preto, SP. *Alimentos e Nutrição*, v. 21, p. 325-331, 2010.

McCLEMENTS, D. J; COUPLAND, J. N. Theory of droplet size distribution measurements in emulsions using ultrasonic spectroscopy. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 117, p. 161-170, 1996.

McCLEMENTS, D. J. *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*. New York: CRC Press, 1999, 598p.

_____. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 47, p.611-649, 2007.

McCLEMENTS, D.J., DECKER, E.A. AND WEISS, J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, v. 72, p. R109-R124, 2007.

McCLEMENTS, D. J., RAO, L. Food-grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, v. 51, p. 285-330, 2013.

MERRYWEATHER, L. M. et al. *Dictionary of food science and technology*. Oxford: Blackwell Publishing, 2005, 413p.

MEYER, M. D. TERRY, L. A. Development of a rapid method for the sequential extraction and subsequent quantification of fatty acids and sugars from avocado mesocarp tissue. *J. Agric. Food Chem.*, v. 56, p.7439-7445, 2008.

MIZRAHI, S., BERK, Z. Flow behavior of concentrated orange juice: mathematical treatment. *Journal of Texture*, v.1, p.69-79, 1972.

MORRISON, I. D; ROSS, S. *Colloidal dispersions: Suspensions, emulsions, and foams*. New York: Wiley, 2002, 656p.

MURRAY, B. S.; DICKINSON, E. Interfacial rheology and the dynamic properties of adsorbed films of food proteins and surfactants. *Food Science and Technology International*, v.2, p. 131-145, 1996.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed. Approved standard M7–A4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa., 1997.

NELSON, D.L.; COX, M.M. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 6. ed. New York: W. H. Freeman, 2013. 1100p.

NI, X., ZANG, Y., MUSTAFA, I. An investigation of droplet size and size distribution in methylmethacrylate suspensions in a batch oscillatory-baffled reactor. *Chemical Engineering Science*, v. 53, p. 2903-2919, 1998.

ORTIZ-MORENO, A. et al. Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 2216-2221, 2003.

ORTIZ-MORENO, A. et al. Effect of a novel oil extraction method on avocado (*Persea americana* Mill) pulp microstructure. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 59, p. 11-14, 2004.

OZDEMIR, F; TOPUZ, A. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvest in ripening period. *Food Chemistry*, v. 86, p. 79-83, 2004.

PACETTI, D. et al. Simultaneous analysis of glycolipids and phospholipids molecular species in avocado (*Persea americana* Mill) fruit. *Journal of Chromatography A*, v. 1150, p. 241-251, 2007.

PAL, R. Rheology of simple and multiple emulsion. *Current Opinion and Colloid and Interface Science*, v. 16, p.41-60, 2011.

PASQUALI, R. C., TAUROZZI, M. P., BREGNI, C. Some considerations about the hydrophilic–lipophilic balance system. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 356, p. 44-51, 2008.

PICHOT, R., WATSON, R. L., NORTON, I. T. Phospholipids at the interface: Current trends and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, p. 11767-11794, 2013.

POKORNY, J. *Fats and oils: Science and applications*. In: HUI, Y. H. *Handbook of food science, technology, and engineering*. Boca Raton: Taylor and Francis Group, p. 34-1-34-21, 2006.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, p. 755-760, 2006.

RANKEN, D. KILL, R. C.; BAKER, C. *Food industries manual*. London: Springer, 1997, 650p.

HECHT, L. L., et al. Influence of the Surfactant Concentration on Miniemulsion Polymerization for the Preparation of Hybrid Nanoparticles. *Macromolecular: Chemistry and Physics*, v. 213, p. 2165–2173, 2012.

HELDMAN, D. R.; LUND, D. B. *Handbook of food engineering*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1992, 756p.

RAO, M. A. *Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications*. 2nd ed. New York: Springer, 2007, 481.

RAVERA, F.; LOGLIO, G.; KOVALCHUK, V. I. Interfacial dilational rheology by oscillating bubble/drop methods. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 15, p. 217-228, 2010.

ROBINS, M. M; WATSON, A. D; WILDE, P. J. Emulsions – creaming and rheology. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 7, n. 5-6, p. 419-425, 2002.

ROCHA, T. E. S. *Composição de ácidos graxos e fitoesteróis em frutos de quatro variedades de abacate *Persea americana* Mill.* Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

SALAGER, J. L. *Formulación, composición y fabricación de emulsiones para obtener las propiedades deseadas. Estado del arte: Introducción y conceptos de formulación fisicoquímica*. 2.ed. Universidade de los Andes. Laboratorio de Formulación, Interfases Reologia y Procesos, (Cuaderno FIRP S747-A), 1999.

SALAGER, J. L, et al. Current phenomenological know-how and modeling of emulsion inversion. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 39, p. 2665-2676, 2000.

SALAGER, J. L, et al. Using emulsion inversion in industrial processes. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 108-109, p. 259-272, 2004.

SALAGER, J. L. Emulsion phase inversion phenomena. In: SJÖBLOM, J. *Emulsion and emulsion stability*. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, p. 185-226, 2006.

SANTANA, I., et al. Avocado (*Persea americana* Mill.) oil produced by microwave drying and expeller pressing exhibits low acidity and high oxidative stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 117, 2015.

SANTOS, M. A. Z., et al. Profile of bioactive compounds in avocado pulp oil: Influence of the drying processes and extraction methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 91, p. 19-27, 2014.

SCHRAMM, L. L. *Emulsions: Fundamentals and applications in the petroleum industry*. Washington: American Chemical Society, 1992, 428p.

_____. *Surfactants: Fundamentals and applications in the petroleum industry*. Cambridge: Cambridge University Press, 2000, 630p.

_____. *Emulsions, foams and suspension: Fundamentals and application*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005, 463p.

SHARMA, S. K.; MULVANEY, S.J.; RIZVI, S. S. H. *Food processing engineering theory and laboratory experiments*. United States of America: Wiley-Interscience, 2000, 368p.

SJÖBLOM, J. *Encyclopedic handbook of emulsion technology*. Nova Iorque : CRC Press, 2001, 760.

STEFFE, J. F. *Rheological methods in food process engineering*. 2^a Ed. Freeman Press, East Lansing, Michigan State, USA. 1996, 418p.

SZUHAJ, B. F. *Lecithins: Sources, Manufacture and Uses*. Champaign: The American Oil Chemists Society, 1989, 283p.

TABILO-MUNIZAGA, G. et al. Flow and viscoelastic properties of pressurized avocado puree. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 29, p. 196-207, 2005.

TADROS, T. F. *Rheology of dispersions: Principles and applications*. Wiley-VCH: Weinheim, 2010, 199p.

TAKENAGA, F. et al. Lipid and fatty acid composition of mesocarp and seed of avocado fruits harvested at northern range in Japan. *Journal of Oil Science*, v. 57, p. 591-597, 2008.

TANGO, J. S., CARVALHO, C. R. L., SOARES, N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 26, p. 17-23, 2004.

TAYLOR, P. Ostwald ripening in emulsions. *Advances in Colloids and Interface Science*, v. 75, p. 107-163, 1998.

THAKUR, R. K. Dynamic emulsification and catastrophic phase inversion of lecithin-based emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 315, p.285-293, 2008.

TURATTI, J. M. *et al.* Caracterização do óleo de abacate obtido por diferentes processos de extração. *Boletim do ITAL*, v. 22, p. 247-266, 1985.

VIANNA, J. F; PIRES, D. X; VIANA, L. H. Processo químico industrial de extração de óleo vegetal: um experimento de química geral. *Química Nova*, v. 22, 1999.

XU, Q., et al. Soybean-based surfactants and their applications. In: NG, T. B. *Soybean - Applications and Technology*. India: In Tech, 2011, p. 341-364.

WERMAN, M. J; NEEMAN, I. Avocado oil production and chemical characteristics. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 64, p. 229-232, 1987.

WHILEY, A. W. *Persea americana* Mill. In: VERHEIJ, E. W. M; CORONEL, R. E. Plant resources of South-East Asia no. 2 – edible fruits and nuts. Wageningen: Pudoc-DLO, p. 249-254, 1992.

WHILEY, A. W; SCHAFFER, B; WOLSTENHOLME, B. N. *The avocado: botany, production and uses*. Walingford: CABI, 2002, 500p.

WHITEHURST, R. J. *Emulsifiers in food technology*. Northampton: Blackwell Publishing, 2004, 264p.

WILTBANK, W. J. Mango and avocado cultivars in Brazil. *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, v. 90, p. 243-244, 1977.

ZAMBRANO, N. et al. Emulsion catastrophic inversion from abnormal to normal morphology. 1. Effect of the Water-to-Oil Ratio Rate of Change on the Dynamic Inversion Frontier. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 42, p. 57-61, 2003.

ZÜGE, L. C. B. et al. Catastrophic inversion and rheological behavior in soy lecithin and Tween 80 based food emulsions. *Journal of Food Engineering*, v. 116, p.72-77, 2013.